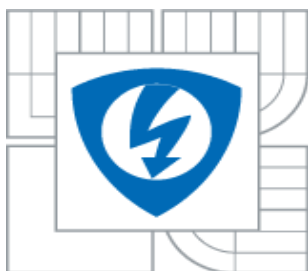




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH  
TECHNOLOGIÍ

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

MR ZOBRAZOVANIE FLUORU - 19

MR IMAGING OF FLUORINE - 19

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

VERONIKA HOLÍČKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

CSc.

SUPERVISOR BRNO 2014

Ing. ZENON STARČUK jr.,

BRNO 2014



**VYSOKÉ UČENÍ  
TECHNICKÉ V BRNĚ**

**Fakulta elektrotechniky  
a komunikačních technologií**

**Ústav biomedicínského inženýrství**

# Bakalářská práce

bakalářský studijní obor

**Biomedicínská technika a bioinformatika**

**Student:** Veronika Holíčková

**ID:** 147457

**Ročník:** 3

**Akademický rok:** 2013/2014

**NÁZEV TÉMATU:**

## MR zobrazování fluoru-19

### POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Vypracujte rešerši metod magnetickorezonančního zobrazování fluoru-19 a jejich využití v predklinickém výzkumu. Zaměřte se jednak na použitelné pulzní sekvence a na možnosti využití fluoru jako markeru a jako oxymetrické sondy. 2) Proveďte pilotní měření <sup>19</sup>F obrazu a spekter na preklinickém MR systému Bruker Biospec 94/30 v ÚPT s použitím fantomu. 3) S využitím materiálu poskytnutých ÚPT připravte fantomy a biologické vzorky pro testování citlivosti detekce <sup>19</sup>F a dle možností pro oxymetrická měření. 4) Optimalizujte vytipované metody zobrazování <sup>19</sup>F na preklinickém MR systému Bruker Biospec 94/30 v ÚPT s ohledem na dostupné RF cívký a fyzikální vlastnosti <sup>19</sup>F v testovaných vzorcích. 5) S užitím optimalizovaných metod a připravených vzorku prozkoumejte praktické možnosti zobrazování <sup>19</sup>F a zhodnoťte aplikovatelnost v animálních modelech. Srovnajte citlivost s protonovými obrazy. 6) Pro výše uvedená měření navrhnete a experimentálně ověřte koregistraci souměrných obrazů <sup>19</sup>F a protonu. 7) Zhodnoťte dosažené výsledky a možné přínosy.

### DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] BERNSTEIN, M. A., KING, K. F., ZHOU, X. J. Handbook of MRI Pulse Sequences, Elsevier Academic Press, 2004.

[2] RUIZ-CABELLO, J., BARNETT, B. P., BOTTOMLEY, P. A., BULTE, J. W. M. Fluorine (<sup>19</sup>F) MRS and MRI in biomedicine, NMR in Biomedicine 24, 114-129, 2011.

**Termín zadání:** 10. 02. 2014

**Termín odevzdání:** 30. 05. 2014

**Vedoucí práce:** Ing. Zenon Starčuk, CSc.

**Konzultanti semestrální práce:**

**prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.**

*Předseda oborové rady*

### UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

## ABSTRAKT

Táto práca sa zaoberá MR zobrazovaním fluóru-19. Jej cieľom je pripraviť fantómy a biologické vzorky pre testovanie citlivosti detekcie  $^{19}\text{F}$ , optimalizovať metódy zobrazovania  $^{19}\text{F}$  na predklinickom MR systéme Bruker Biospec 94/30, preskúmať praktické možnosti zobrazovania  $^{19}\text{F}$  na pripravených vzorkách a porovnať citlivosť s protónovými obrazmi. Na záver je nutné zhodnotiť dosiahnuté výsledky a možné prínosy metódy.

## KĽÚČOVÉ SLOVÁ

MRI, fluór-19, Bruker Biospec 94/30, citlivosť detekcie  $^{19}\text{F}$ , spektroskopické meranie, optimalizácia metód zobrazovania  $^{19}\text{F}$

## ABSTRACT

This thesis deals with MR imaging of fluorine-19. Its aim is to prepare phantoms and biological samples for testing of detection sensitivity  $^{19}\text{F}$ , to optimize methods of imaging  $^{19}\text{F}$  with a preclinical MR system Bruker Biospec 94/30, to examine practical possibilities of imaging  $^{19}\text{F}$  on prepared samples and to compare the sensitivity with proton images. Finally, it is necessary to evaluate the results and potential benefits of method.

## KEYWORDS

MRI, fluorine -19, Bruker Biospec 94/30, detection sensitivity of  $^{19}\text{F}$ , spectroscopy measurement, optimization of imaging methods of  $^{19}\text{F}$

HOLÍČKOVÁ, V. *MR zobrazování fluoru-19*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2014. 70 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Zenon Starčuk, CSc..

## PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že svoju bakalársku prácu na téma MR zobrazovanie fluóru-19 som vypracovala samostatne pod vedením vedúceho bakalárskej práce a s použitím odbornej literatúry a ďalších informačných zdrojov, ktoré sú všetky citované v práci a uvedené v zozname literatúry na konci práce.

Ako autor uvedenej bakalárskej práce ďalej prehlasujem, že v súvislosti s vytvorením tejto práce som neporušila autorské práva tretích osôb, taktiež som nezasiahla nedovoleným spôsobom do cudzích autorských práv osobnostných a som si plne vedomá následkov porušenia ustanovenia § 11 a nasledujúcich autorského zákona č.121/2000 Sb., vrátane možných trestnoprávných dôsledkov vyplývajúcich z ustanovení časti druhej, hlavy VI. diel 4 Trestného zákonníka č.40/2009 Sb.

V Brne dňa 30.05.2014

.....

## POĎAKOVANIE

Na tomto mieste by som sa rada poďakovala vedúcemu bakalárskej práce Ing. Zenonovi Starčukovi jr., CSc. za účinnú metodickú, pedagogickú a odbornú pomoc, za cenné rady, pripomienky a materiály. Rada by som taktiež poďakovala Mgr. Anetě Malej a Ing. Jánovi Rychnovskému Ph.D. za účinnú metodickú pomoc, za odborné rady, pripomienky, pomoc pri meraní a za ústretovosť. Ďalej by som rada poďakovala svojim najbližším za podporu počas vypracovávania tejto práce a po celú dobu môjho štúdia.

V Brne dňa 30.05.2014

.....

# OBSAH

Zoznam obrázkov .....	viii
Zoznam tabuliek .....	xi
1. Úvod.....	1
2. Obecný princíp nukleárnej magnetickej rezonancie .....	3
2.1. Vysvetlenie dôležitých pojmov .....	5
2.1.1. Rádiofrekvenčné (RF) pulzy .....	5
2.1.2. Relaxácia .....	6
2.1.3. Repetičný čas .....	7
2.1.4. Echo čas .....	7
2.2. Sekvencie využívané v MRI .....	8
2.2.1. Gradientné – echo sekvencia (GE) .....	8
2.2.2. Sekvencia spinového echa (SE).....	10
2.3. Relaxometrické meranie.....	11
2.4. Spektroskopické meranie .....	13
3. Magnetickorezonančné zobrazovanie fluóru .....	14
3.1. Vlastnosti $^{19}\text{F}$ MRI .....	14
3.2. Zlúčeniny obsahujúce $^{19}\text{F}$ - perfluórové uhľovodíky (PFCs).....	14
4. Využitie $^{19}\text{F}$ MRI .....	17
4.1. MRI kmeňových buniek v strede záujmu .....	17
4.2. Pro-liečivá .....	18
4.3. $^{19}\text{F}$ MRI oxymetria .....	18
5. Návrh fantómu pre $^{19}\text{F}$ MRI oxymetriu z literatúry .....	20
6. Optimalizácia parametrov merania a využité fantómy .....	21
6.1. Fantóm Bruker Biospec s.r.o.....	22
6.2. Fantóm citlivosti.....	26
6.3. Tyčinkový fantóm s lineárnym PFPE .....	33
7. Spektroskopické meranie využívaných zlúčenín .....	40
7.1. Trifluóretanol – Bruker Biospec s.r.o. fantóm .....	40
7.2. Kyselina trifluóroctová.....	41

7.3. Lineárne PFPE – Fomblin .....	45
8. Aplikovateľnosť využívaných zlúčenín v animálnych modeloch a porovnanie citlivosti s $^1\text{H}$ obrazmi .....	53
9. Záver .....	54
Zoznam použitých skratiek .....	56
Zoznam použitej literatúry .....	57

# ZOZNAM OBRÁZKOV

<b>Obr. 1</b> Precesný pohyb a rotačný pohyb (spin) protónu [7] .....	4
<b>Obr. 2</b> a) vzorka mimo magnetické pole; b) vzorka v magnetickom poli $M_0 \parallel B_0$ ; c) vzorka po aplikácii $90^\circ$ RF impulzu – vektor $M$ je kolmý na $B_0$ [6].....	5
<b>Obr. 3</b> a) Popisuje aplikáciu $90^\circ$ RF pulzu v rotujúcej súradnej sústave; b) longitudinálnu relaxáciu; c) tranzverzálnu relaxáciu [8] .....	6
<b>Obr. 4</b> Priebeh tranzverzálnej relaxácie po aplikácii $90^\circ$ RF pulzu, pri ktorom dochádza k sfázovaniu a následne po jeho ukončení nastáva tranzverzálna relaxácia, ktorá spôsobuje rozfázovanie [8].....	7
<b>Obr. 5</b> Porovnanie dĺžky opakovacieho času (TR) a echo času (TE) (priebeh spin-echo sekvencie) [11] .....	8
<b>Obr. 6</b> Princíp GE sekvencie; farebné čiary na obrázku znamenajú fázy v rôznych polohách vo vzorke v smere gradientu [7].....	9
<b>Obr. 7</b> Princíp GE sekvencie pre zobrazenie [7] .....	9
<b>Obr. 8</b> Princíp spin-echo sekvencie pre zobrazenie [7].....	10
<b>Obr. 9</b> Závislosť $T_2$ relaxácie na echo čase [7].....	11
<b>Obr. 10</b> Porovnanie priebehu $T_2^*$ a $T_2$ krivky [23].....	12
<b>Obr. 11</b> Schéma aplikovania RF impulzu, získania FID signálu a nasledujúcej aplikácie Fourierovej transformácie na FID signál [6].....	13
<b>Obr. 12</b> a) Spektroskopický podpis perfluórpolyéterových (PFPE) a perfluórokytlbromidových (PFOB) nanočastíc. Môžeme tu vidieť jeden PFPE vrchol a päť PFOB vrcholov, ktoré sú ľahko detekovateľné; b) chemická štruktúra PFPE; c) schéma PFPE nanočastice s naviazanými ligandami na fosfolipidovej monovrstve (zelené). [13].....	16
<b>Obr. 13</b> Názorná ukážka značenia kmeňových buniek PFC nanoemulziami. Značené bunky sú následne transplantované do subjektu a zobrazené pomocou $^{19}\text{F}$ a $^1\text{H}$ MRI. $^1\text{H}$ MRI je dôležitá, kvôli správnej lokalizácii. [19] .....	17
<b>Obr. 14</b> Nákras navrhovaného fantóma [14] .....	20
<b>Obr. 15</b> Bruker Biospec fantóm „Rat Head“ .....	22
<b>Obr. 16</b> Obráz s najväčším pomerom signál – šum (SNR = 6,57) .....	23
<b>Obr. 17</b> Obráz zobrazený pomocou sekvencie RARE, s TR 3000 ms a TE 40,6 ms.....	24
<b>Obr. 18</b> Obráz zobrazený pomocou sekvencie MSME, TR 2000 ms a TE 14 ms .....	25
<b>Obr. 19</b> Vodíkový obraz vytvorený sekvenciou RARE .....	25



<b>Obr. 20</b>	Rozloženie koncentrácií v obrazoch s piatimi eppendorfkami .....	27
<b>Obr. 21</b>	Vodíkový obraz vytvorený základnou sekvenciou TRIPILLOT .....	27
<b>Obr. 22</b>	Obraz zobrazený pomocou sekvencie RARE a priemerovaním: 40 .....	28
<b>Obr. 23</b>	Obraz zobrazený pomocou sekvencie RARE a priemerovaním: 10 .....	28
<b>Obr. 24</b>	Fantóm citlivosti so 4 eppendorfkami .....	29
<b>Obr. 25</b>	Rozloženie koncentrácií v obrazoch so štyrmi eppendorfkami .....	30
<b>Obr. 26</b>	Obraz zobrazený pomocou sekvencie RARE .....	30
<b>Obr. 27</b>	Obraz zobrazený pomocou sekvencie MSME .....	31
<b>Obr. 28</b>	Graf závislosti SNR na koncentrácii fluóru v jednotlivých fantómoch .....	32
<b>Obr. 30</b>	Tyčinkový fantóm, plnený fomblinom a vodou – bočný pohľad.....	33
<b>Obr. 29</b>	Návrh fantómu .....	33
<b>Obr. 31</b>	Tyčinkový fantóm, plnený .....	34
<b>Obr. 32</b>	Vodíkový obraz zobrazený pomocou sekvencie Flash .....	35
<b>Obr. 33</b>	Obraz zobrazený pomocou sekvencie RARE .....	35
<b>Obr. 34</b>	Obraz zobrazený pomocou sekvencie Flash .....	36
<b>Obr. 35</b>	Obraz zobrazený pomocou sekvencie MSME .....	36
<b>Obr. 36</b>	Preložený fluórový a vodíkový obraz zobrazený sekvenciou Flash .....	37
<b>Obr. 37</b>	Preložený fluórový a vodíkový obraz zobrazený sekvenciou MSME .....	37
<b>Obr. 38</b>	Preložený fluórový a vodíkový obraz zobrazený sekvenciou RARE .....	38
<b>Obr. 39</b>	Obraz zobrazený neoptimalizovanými parametrami.....	39
<b>Obr. 40</b>	Vodíkové spektrum .....	40
<b>Obr. 41</b>	Fluórové spektrum .....	41
<b>Obr. 42</b>	Vodíkové spektrum z celého objemu 28x28x28 mm.....	41
<b>Obr. 43</b>	Vodíkové spektrum z jednej eppendorfky 6x6x6 mm .....	42
<b>Obr. 44</b>	Fluórové spektrum z celého objemu 28x28x28 mm .....	42
<b>Obr. 45</b>	Fluórové spektrum z celého objemu 28x28x28 mm - približené.....	42
<b>Obr. 46</b>	Fluórové spektrum z celého objemu 6x6x6 mm, pre koncentrácii 1000 mM .....	43
<b>Obr. 47</b>	Fluórové spektrum z celého objemu 6x6x6 mm, pre koncentrácii 1000 mM - približené.....	43

<b>Obr. 48</b> Fluórové spektrum z celého objemu 6x6x6 mm, pre ostatné koncentrácie .....	44
<b>Obr. 49</b> FID signál kyseliny trifluóroctovej s koncentráciou 1000 mM .....	44
<b>Obr. 50</b> FID signál kyseliny trifluóroctovej s koncentráciou 100 mM .....	45
<b>Obr. 51</b> Štruktúrny vzorec lineárneho PFPE udávaný výrobcom [27].....	45
<b>Obr. 52</b> Vodíkové spektrum z celého objemu 31x31x31 mm.....	46
<b>Obr. 53</b> Vodíkové spektrum z objemu 2x2x30 mm (tyčinka naplnená rýchlou vodou) .....	46
<b>Obr. 54</b> Vodíkové spektrum z objemu 2x2x30 mm (S –stred viz. Obr. 54) .....	46
<b>Obr. 55</b> Rozloženie objemov, z ktorých boli snímané spektrá (zelený -31x31x31 mm, červený – 12x12x12 mm, žltý – 5x12x12 mm) a jednotlivé poradie snímaných spektier z tyčiniek, S – stred (vodíkové spektrum).....	47
<b>Obr. 56</b> Fluórové spektrum z celého objemu 31x31x31 mm (frekvenčné pásmo 4006,41 Hz) .....	47
<b>Obr. 57</b> Fluórové spektrum z celého objemu 31x31x31 mm (frekvenčné pásmo 20000 Hz). 48	
<b>Obr. 58</b> Fluórové spektrum z objemu 12x12x12 mm (frekvenčné pásmo 15000 Hz).....	48
<b>Obr. 59</b> Fluórové spektrum z objemu 5x12x12 mm .....	48
<b>Obr. 60</b> Fluórové spektrum zosnímané s 1. tyčinky.....	49
<b>Obr. 61</b> Fluórové spektrum zosnímané s 2. tyčinky.....	49
<b>Obr. 62</b> Fluórové spektrum zosnímané s 3. tyčinky.....	49
<b>Obr. 63</b> Fluórové spektrum zosnímané s 4. tyčinky.....	50
<b>Obr. 64</b> Fluórové spektrum zosnímané s 5. tyčinky.....	50
<b>Obr. 65</b> Fluórové spektrum zosnímané s 6. tyčinky.....	50
<b>Obr. 66</b> Fluórové spektrum zosnímané s 7. tyčinky.....	51
<b>Obr. 67</b> Fluórové spektrum zosnímané s 8. tyčinky.....	51
<b>Obr. 68</b> Fluórové spektrum zosnímané s 9. tyčinky.....	51
<b>Obr. 69</b> Fluórové spektrum zosnímané z objemu 2x2x2 z 1. tyčinky.....	52

# ZOZNAM TABULIEK

<b>Tabuľka 1</b>	Koncentrácie fluóru v jednotlivých zlúčeninách použitých vo fantómoch.....	21
<b>Tabuľka 2</b>	Zmeny v TR .....	22
<b>Tabuľka 3</b>	Zmeny v útlme (sklápacých uhlov).....	22
<b>Tabuľka 4</b>	Zmeny v TE .....	23
<b>Tabuľka 5</b>	Zmena v RARE faktore.....	23
<b>Tabuľka 6</b>	Optimalizáciou sekvencie MSME a zvýšenie TR pre sekvenciu RARE.....	24
<b>Tabuľka 7</b>	Optimalizované parametre pre fantóm s piatimi eppendorfkami.....	26
<b>Tabuľka 8</b>	Optimalizované parametre pre jednotlivé sekvencie .....	29
<b>Tabuľka 9</b>	Optimalizované parametre pre jednotlivé sekvencie .....	34

# 1. Úvod

Vo svojej bakalárskej práci som sa venovala MR zobrazovaniu  $^{19}\text{F}$ , čo je v bežnej klinickej praxi nevyužívaná metóda. Bolo by však dobré usilovať o jej využitie v biomedicínskom výskume a predklinickom vývoji liečiv. Cieľom mojej práce bolo zhrnúť čo najviac poznatkov o tejto metóde a následne ich aplikovať a optimalizovať pre užívanie. Magnetická rezonancia, využívaná v bežnej klinickej praxi, je zatiaľ najlepšou zobrazovacou metódou, z hľadiska jej neinvazívnosti (ak sa nepodáva kontrastná látka), vyznačuje sa minimálnym či dokonca žiadnym negatívnym účinkom na živé organizmy. Nevyužíva totiž ionizujúce žiarenie ako ostatné zobrazovacie modalitty (okrem ultrazvuku, ktorý však nie je pre laika dostatočne zrozumiteľný), ale využíva jav magnetickej rezonancie, kde pracujeme s elektromagnetickým poľom takých kmitočtov, že energia ich fotónov je niekoľkokrát nižšia ako energia fotónov ionizačného žiarenia. Ten môžeme merať na viacerých jadrách, ktoré obsahujú nepárny počet nukleónov. Patria sem aj jadrá  $^{19}\text{F}$ , ktoré nás zaujímajú najmä preto, že nemajú žiadne prirodzené pozadie, ich citlivosť je blízka citlivosti  $^1\text{H}$  MRI a sú biokompatibilné. To čo touto metódou zobrazíme, budú vždy podané kontrastné látky, keďže sa  $^{19}\text{F}$  v organizme nachádza len v stopovom množstve, viazaný v kostiach a zuboch. Koncentrácia  $^{19}\text{F}$  v nich však nie je dostatočná na zobrazenie. Sú predpoklady k využitiu  $^{19}\text{F}$  ako markeru aj v klinickej praxi, kde bude nutné  $^{19}\text{F}$  kombinovať s  $^1\text{H}$ , ktorého vysoká koncentrácia umožňuje dosiahnuť vysoké priestorové rozlíšenie, a tým  $^{19}\text{F}$  obrazové dáta uvedieme do správnych priestorových vzťahov s anatómiou. Kombinácia  $^{19}\text{F}$  a  $^1\text{H}$  obrazových dát je schopná podať komplexnejší obraz farmakokinetiky alebo patofyziológie.

Vlastnosti  $^{19}\text{F}$  MRI sú takmer identické s vlastnosťami klinicky používanej  $^1\text{H}$  MRI (až na veľkosti ich signálov), dokonca nie je potrebné ani vytvárať iný typ skeneru. Potrebná je len schopnosť systému vysielat' a prijímať signály na Larmorovej frekvencii  $^{19}\text{F}$ . U multinukleárných MR systémoch postačuje zapojiť RF cievku, ktorá bude budiť a zachytávať signál jadier  $^{19}\text{F}$ . Nie je nutné vytvárať ani nové skenovacie sekvencie, i keď dá sa očakávať, že optimálna voľba parametrov sekvencií bude iná, ako u  $^1\text{H}$ , následkom rozdielnej veľkosti signálu.

Kontrastné látky využívané pre fluórové MRI sú veľmi stabilné. Vďaka ich chemickej stabilite je možné snímať signál po dobu niekoľkých dní až týždňov. Podávané sú intracelulárne vo forme nanočasticových emulzií.

$^{19}\text{F}$  MRI má široké využitie, ktoré je stále testované v predklinickom výskume. Využitie tejto metódy by prispelo k mnohým pokrokom pri onkologických liečbach, pretože  $^{19}\text{F}$  MRI je schopné detekovať čistý signál  $^{19}\text{F}$  z nádoru, kde nádor vychytá  $^{19}\text{F}$  značený kyslík, čím sme schopní určiť nádorovú hypoxiu, ktorú je nutné vedieť pre úspešnú onkologickú liečbu. V nedávnych výskumoch sú skúmané tzv. pro-liečivá, ktoré sú prekursorami pre účinné liečivá využívané v chemoterapii a rádioterapii. Metóda je využívaná

aj na meranie parciálneho tlaku kyslíka ( $pO_2$ ), odhaduje molekulárny prejav v cievnych chorobách, a taktiež sleduje značené kmeňové bunky. [12], [13], [14], [15], [19].

## 2. Obecný princíp nukleárnej magnetickej rezonancie

*Na vypracovanie tejto kapitoly som využila literatúru [1], [2], [3], [5], [6].*

Pre samotné pochopenie princípu zobrazenia magnetickej rezonancie (MRI) je vhodné ujasniť si, čo fyzikálny jav nukleárnej magnetickej rezonancie (NMR) predstavuje. NMR je jav, ktorý súvisí s chovaním atómových jadier v statických a oscilujúcich magnetických poliach. Pre NMR je základnou jednotkou jadro konkrétneho nukleotidu, ktoré neustále vykazuje rotačný pohyb. Tento pohyb sa označuje ako jadrový spin či vlastný mechanický moment jadra. Je daný vektorovým súčtom orbitálnych momentov hybnosti a spinov nukleónov jadra. [1] Rotačný pohyb kladne nabitých protónov jadra sa dá považovať za elementárnu prúdovú smyčku, ktorá okolo seba vytvára slabé magnetické pole a jeho modelom je magnetický dipól. Týmto môžeme jadrá obsahujúce nukleóny nazvať malými magnetmi, ktoré majú určitý magnetický moment. Podmienkou, aby jadrá vykazovali nenulový spin a magnetický moment je nepárny počet protónov alebo neutrónov. Do tejto skupiny prvkov pripadá vodík  $^1\text{H}$ , uhlík  $^{13}\text{C}$ , fluór  $^{19}\text{F}$ , sodík  $^{23}\text{Na}$ , fosfor  $^{31}\text{P}$ , a ost.

V normálnom, bežnom prostredí bez magnetického poľa sú magnetické momenty jadier zorientované náhodne a ich celkový magnetický moment je nulový. Magnetické momenty jadier sa po vložení do magnetického poľa  $\vec{B}_0$  zorientujú v smere - paralelne (poprípade v protismere - antiparalelne) so siločiarami vonkajšieho magnetického poľa  $\vec{B}_0$ . Orientácia v protismere magnetického poľa je o niečo energeticky náročnejšia, čiže týchto jadier bude menej. Rozdiel medzi počtom paralelne a antiparalelne zorientovaných častíc je malý a závisí od veľkosti vonkajšieho magnetického poľa  $\vec{B}_0$ .

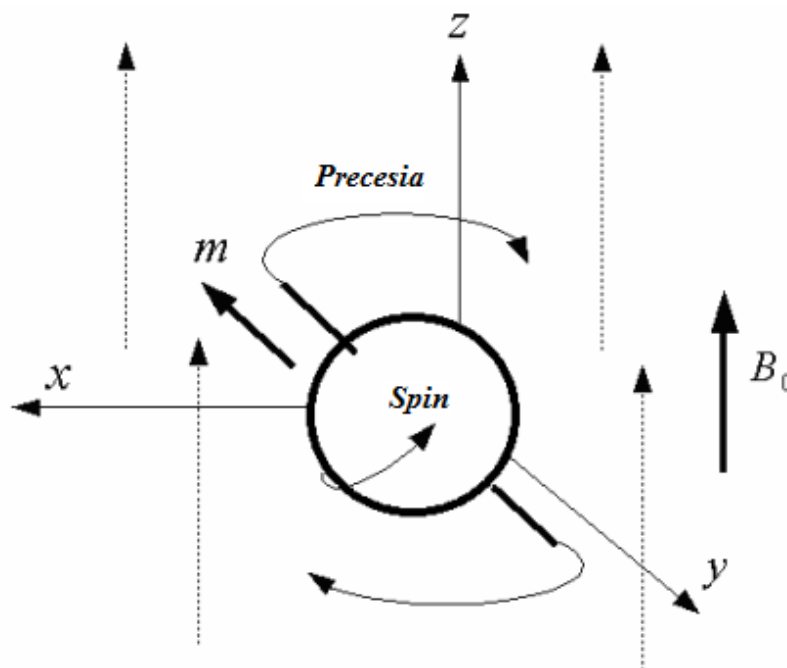
$$\frac{N(m)}{N(m+1)} = \exp\left(-\frac{\gamma \hbar B_0}{2\pi kT}\right), \quad (1)$$

kde  $N(m)$  je počet spinov na  $m$ -tej energetickej hladine (obsadenosť, populácia danej energetickej hladiny  $m$ ),  $N(m+1)$  je obsadenosť nasledujúcej energetickej hladiny  $m+1$ ,  $B_0$  je veľkosť vonkajšieho magnetického poľa,  $k$  je označenie pre Boltzmannovu konštantu (jej hodnota je  $1,380658 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$ ),  $T$  termodynamická teplota,  $\gamma$  gyromagnetický moment (pre vodíkové jadrá  $^1\text{H}$  má hodnotu  $42,577 \text{ MHz/T}$ ) a  $\hbar/2\pi$  je redukovaná Planckova konštanta (jej hodnota je  $1,054571 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$ ).

Jadrá umiestnené do tohto poľa však nevykonávajú len vyššie uvedený vlastný rotačný pohyb. Ak sa totiž jadrá dostanú z akýchkoľvek príčin do iného, ako stacionárneho stavu, ich stav sa začne periodicky meniť a v dôsledku tohto vývoja začne magnetizácia vykonávať precesný pohyb okolo smeru magnetického poľa  $B_0$ . Tento pohyb je možné prirovnať k pohybu po plášti kužeľa. Frekvencia tohto pohybu sa nazýva Larmorová frekvencia. Veľkosť Larmorovej frekvencie ( $\nu_0$ ) (2), je tým vyššia, čím je silnejšie magnetické pole.

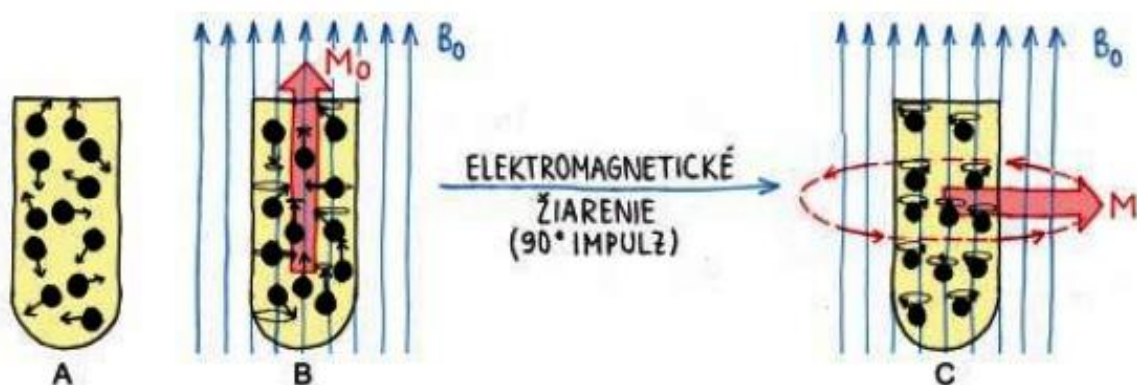
$$\nu_0 = -\gamma \cdot B_0, \quad (2)$$

kde  $\gamma$  je označenie pre gyromagnetický moment (pre každý prvok je táto konštanta iná;  $^1\text{H}$  má  $\gamma = 42,577 \text{ MHz/T}$  a  $^{19}\text{F}$  má  $\gamma = 40,08 \text{ MHz/T}$  [12]),  $B_0$  je intenzita vonkajšieho magnetického poľa a  $\nu_0$  je veľkosť Larmorovej frekvencie. Koncentrácia jadier daného typu nie je pre celý meraný objem konštantná. U  $^1\text{H}$  MRI sa prejavuje to, že rôzne tkanivá majú rôznu koncentráciu jadier  $^1\text{H}$  a teda aj magnetizácia (čiže magnetický moment vzťahujúci sa na objemovú jednotku) sa bude líšiť.



**Obr. 1** Precesný pohyb a rotačný pohyb (spin) protónu [7]

Nevieme zatiaľ, ako môžeme vektor magnetizácie ( $\vec{M}$ ) zmerať. K tomuto, aby sme toho boli schopní, potrebujeme ďalšie magnetické pole (magnetický pulz), ktoré dodá protónom ďalšiu energiu, pomocou ktorej bude vektor vychýlený. Najčastejšie sa využíva pulz, ktorý vykloní longitudinálnu magnetizáciu  $M_z$  (t.j. rovnobežnú s  $B_0$ ) do tranzverzálnej magnetizácie  $M_{xy}$  (t.j. kolmej s  $B_0$ ) (viz. Obr. 2). Aby táto excitácia bola účinná, je potrebné, aby frekvencia magnetického poľa  $B_0$  bola blízko frekvencii magnetického poľa  $B_0$ . V tomto prípade bude popis najjednoduchší a dosiahnutý sklápací uhol (uhol medzi magnetizáciou pred a po pulze) najväčší.



**Obr. 2** a) vzorka mimo magnetické pole; b) vzorka v magnetickom poli  $M_0 \parallel B_0$ ; c) vzorka po aplikácii  $90^\circ$  RF impulzu – vektor  $M$  je kolmý na  $B_0$  [6]

## 2.1. Vysvetlenie dôležitých pojmov

### 2.1.1. Rádiofrekvenčné (RF) pulzy

*Na vypracovanie tejto podkapitoly som využila literatúru [4], [5].*

Je potrebné vysvetliť, čo sa stane s látkou, ktorá bude v skeneri. Látka totiž v tomto stave má nenulový celkový magnetický moment a smer jej celkovej magnetizácie bude rovnobežný so smerom vonkajšieho magnetického poľa  $\vec{B}_0$ . Vektor novovzniknutého poľa nazývame magnetizácia  $\vec{M}$  a je to magnetický moment objemovej jednotky. Jeho intenzita, je však veľmi malá oproti intenzite vonkajšieho magnetického poľa. V tomto usporiadaní nie sme schopní intenzitu magnetizácie merať, keďže sa stráca v oveľa väčšom vonkajšom magnetickom poli.

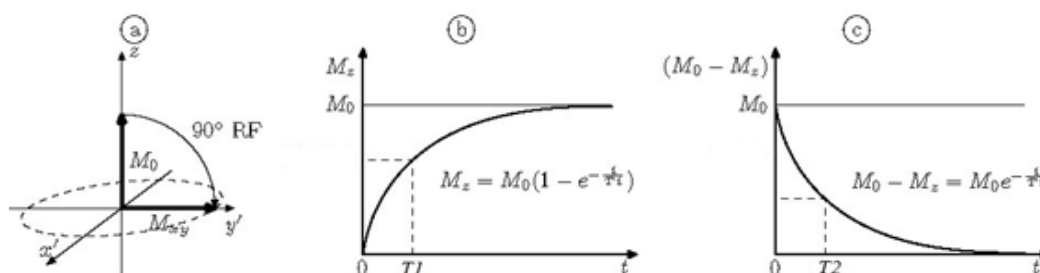
Krátke rádiofrekvenčné pulzy (spomínané vyššie) sa využívajú k vykloneniu vektor magnetizácie  $M_z$  do osi  $xy$  tak, aby vznikla magnetizácia  $M_{xy}$ , ktorú sme schopní detekovať. Detekujeme jeho intenzitu a smer (fázu). Pulzy sú spravidla tvarované a optimalizované (sklápací uhol, kmitočtová šírka a pod.) k určitej funkcii. Sú neobmedzene dĺžkovo, amplitúdovo, fázovo i frekvenčne škálovateľné a svoju funkciu plnia v pulzných sekvenciách. Sekvencia je viacero pulzov spustených v presne stanovených časoch s danými parametrami, a sú vysvetlené v podkapitole 2.2. Po skončení RF pulzu sa jadrá sfázujú – vykonávajú synchronný precesný pohyb vo fáze. Vektor magnetizácie sa vykloní do roviny tak, aby tranzverzálna zložka magnetizácie bola nenulová.



## 2.1.2. Relaxácia

*Na vypracovanie tejto podkapitoly som využila literatúru [2], [4], [5], [9], [10], [11].*

Relaxácia jadier prebieha neustále. Jadrá totiž nie sú schopné zotrvať dlhodobo v energeticky náročnejšom stave, a preto sa snažia vrátiť do stavu s nižšou energiou. Zo zmenou stavu strácajú aj synchronný precesný pohyb. Relaxácia obsahuje dva procesy, ktoré prebiehajú súčasne. Tieto procesy sa nazývajú spin-mriežková alebo inak aj longitudinálna relaxácia ( $T_1$ ) a spin-spinová inak aj tranzverzálna relaxácia ( $T_2$ ). Prvá relaxácia  $T_1$  súvisí s energiou. Dochádza tu k výmene energie medzi jadrovými spinmi a okolím – „mriežkou“. Táto výmena sa deje na rezonančnou princípe a jej intenzita súvisí s množstvom porúch na Larmorovom kmotočte. Tieto výmeny energie vedú k obnoveniu Boltzmannovej distribúcie. Druhá relaxácia  $T_2$  súvisí s entropiou. S interakciami, ktoré vedú k náhodným zmenám (v amplitúde a fázi) tranzverzálnych komponentov magnetického momentu, bez toho, aby došlo k zmene energie. Jednotlivé relaxácie prebiehajú s rôznou rýchlosťou.

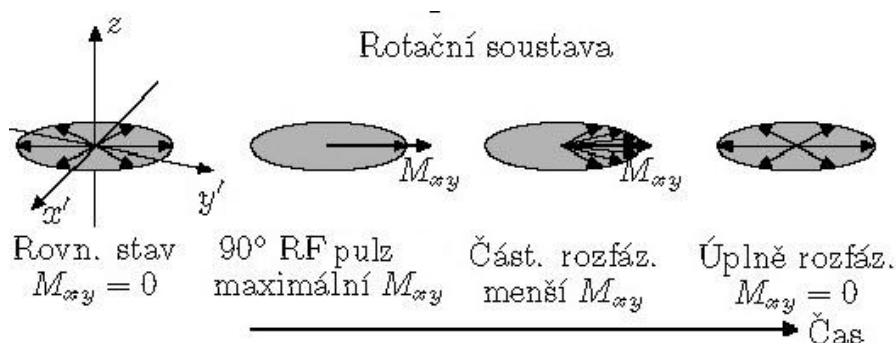


**Obr. 3 a)** Popisuje aplikáciu  $90^\circ$  RF pulzu v rotujúcej súradnej sústave; **b)** longitudinálnu relaxáciu; **c)** tranzverzálnu relaxáciu [8]

Priebeh relaxačnej krivky longitudinálnej relaxácie ( $T_1$ ) môžeme vidieť na Obr. 3b. Vektor longitudinálnej magnetizácie sa z roviny xy vracia do osi z. Ako môžeme vidieť na Obr. 3b, longitudinálna relaxácia postupne vzrastá v čase a jej veľkosť je väčšia, ako veľkosť relaxačného času  $T_2$ . Veľkosť longitudinálnej relaxácie závisí od zloženia tkaniva (tuk má  $T_1$  150 – 250 ms; voda má  $T_1$  2000 – 3000 ms [9]), štruktúry tkaniva, a taktiež závisí aj na intenzite vonkajšieho magnetického poľa. Čím je väčšia veľkosť vonkajšieho magnetického poľa, tým je dlhšia aj relaxácia  $T_1$ . Dĺžka relaxačného času je daná aj veľkosťou molekúl. Malé molekuly sa pohybujú rýchlo, a preto je ich relaxačný čas vyšší.

Priebeh relaxačnej krivky tranzverzálnej relaxácie ( $T_2$ ) môžeme vidieť na Obr. 3c. U tejto relaxácie nejde o preklápanie tranzverzálnych zložiek magnetického momentu jednotlivých jadier, ale o ich rozfázovanie. Pri aplikácii RF pulzu totiž všetky jadrá rotovali s rovnakou Larmorovou frekvenciou vo fáze, ale po jeho skončení dochádza k ich rozfázovaniu (Obr. 4). Ako môžeme vidieť na priebehu

relaxačnej krivky dochádza tu k poklesu tranzverzálnej relaxácie v čase. Rýchlosť  $T_2^*$  relaxácie je ovplyvňovaná vnútornými a vonkajšími nehomogenitami magnetického poľa.



**Obr. 4** Priebeh tranzverzálnej relaxácie po aplikácii  $90^\circ$  RF pulzu, pri ktorom dochádza k sfázovaniu a následne po jeho ukončení nastáva tranzverzálna relaxácia, ktorá spôsobuje rozfázovanie [8]

### 2.1.3. Repetičný čas

*Na vypracovanie tejto podkapitoly som využila literatúru [9], [10].*

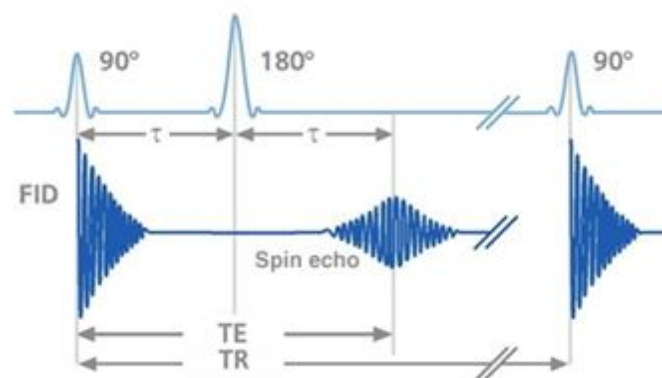
Repetičný čas (Repetition time - TR) alebo inak aj opakovací čas, je doba medzi prvým excitačným pulzom sekvencie a ďalším excitačným pulzom opakovanej sekvencie (viz. Obr. 5). Vymedzuje ho začiatok prvého RF pulzu a potom opakovanie rovnakého RF pulzu v čase  $t$ . Zmenou tohto nastaviteľného parametra sme schopní ovplyvňovať intenzitu signálu, ktorý dostaneme a aj kontrast obrazu.

Krátke TR je bežné pre  $T_1$  vážený obraz, zatiaľ čo dlhé TR sa využíva pri  $T_2$  váženom obraze. Dĺžka repetičného času ovplyvňuje aj samotnú dĺžku skenovacieho času.

### 2.1.4. Echo čas

*Na vypracovanie tejto podkapitoly som využila literatúru [9], [10], [11].*

Echo čas (Echo Time - TE) je čas, ktorý uplynie od stredu aplikovaného  $180^\circ$  RF pulzu do stredu echo signálu (viz. Obr. 5). Obecne je to čas, po ktorom sa pozorovaná zložka magnetizácie nachádza v tranzverzálnej rovine. Tak ako TR aj TE je nastaviteľný parameter a jeho zmenou sme schopní ovplyvniť kontrast obrazu.



**Obr. 5** Porovnanie dĺžky opakovacieho času (TR) a echo času (TE) (priebeh spin-echo sekvencie) [11]

## 2.2. Sekvencie využívané v MRI

*Na vypracovanie tejto podkapitoly som využila literatúru [4], [5], [9], [11].*

Na vybudenie signálu z látok, potrebujeme magnet s magnetickou indukciou  $\vec{B}_0$  a dva druhy cievok: vysielač a prijímač. Vysielač je potrebná k vzniku samotného javu magnetickej rezonancie. Vďaka nej totiž vybudíme jednotlivé jadrá k precesnému pohybu. Dodaním energie pomocou excitačného RF pulzu vychýlime orientáciu spinu (magnetického momentu jadra) zo smeru vonkajšieho magnetického poľa. Pri návrate do pôvodnej polohy je vyžiarená energia. Tú snímame prijímacou cievkou a získavame signál. Poznáme viacero druhov sekvencií. Najčastejšie v praxi využívané sekvencie sa zakladajú na dvoch základných typoch, ktoré si v nasledujúcich podkapitolách popíšeme.

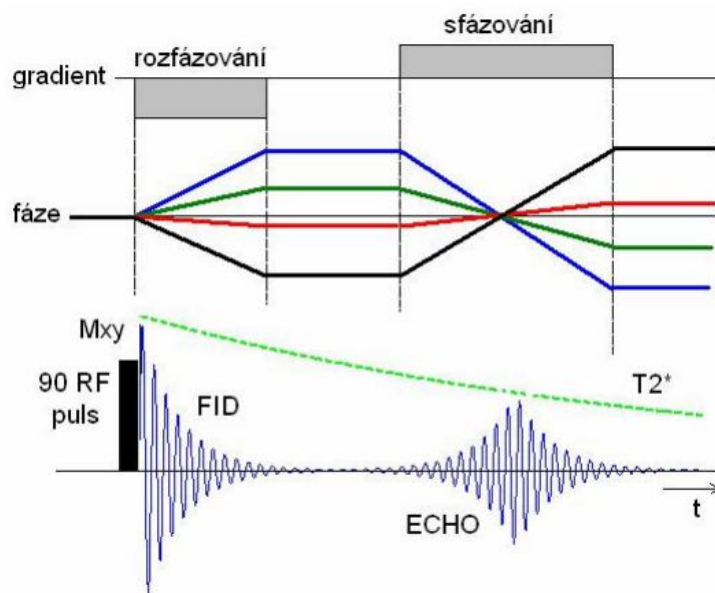
### 2.2.1. Gradientné – echo sekvencia (GE)

Táto sekvencia využíva 90° RF pulz, ale namiesto 180° RF pulzu, ktorý sa využíva v SE sekvencii (pozri kap. 2.2.2) tu využívame gradient s opačným znamienkom. 90° RF pulz sklopí vektor magnetizácie do roviny xy. Aplikáciou magnetického gradientu<sup>1</sup> (ďalšie magnetické pole) plánujeme zmeniť rezonančné kmitočty tak, aby lineárne záviseli na súradniciach x, y, resp. z. Dochádza tu k refokusu spinov (reverzibilnému) rozfázovaniu spinov. Po krátkej dobe sa gradient vypne a krátko na to zapne, no s opačným znamienkom (opačným smerom). Ten spôsobí opätovné sfázovanie, čím vznikne merateľné echo. Na prvý pohľad to má rovnaký účinok ako 180° RF pulz, a však tento proces je časovo menej náročný. Nevýhoda tejto metódy je

<sup>1</sup> Magnetický gradient poľa  $B_0$  v smere x, y, z vytvorení zvláštnymi cievkami.

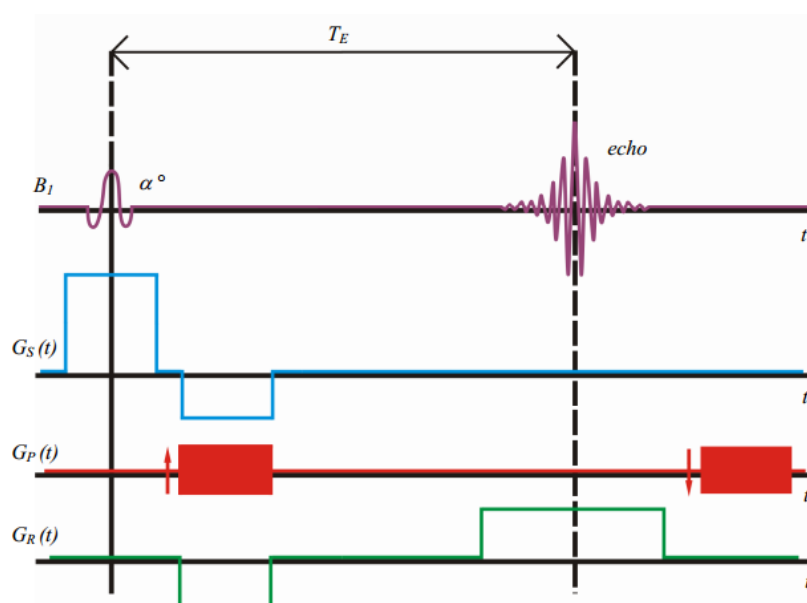
<sup>2</sup> IR je sekvencia, ktorá sa dá využívať za obrátenú verziu spinového echa, keďže tu najskôr aplikujeme 180° RF

vo väčšej citlivosti na nehomogenity magnetického poľa, pretože rozfázovanie, ktoré vzniká v dôsledku mikroskopických nehomogenít poľa tu nie je napravené.



**Obr. 6** Princíp GE sekvencie; farebné čiary na obrázku znamenajú fázy v rôznych polohách vo vzorke v smere gradientu [7]

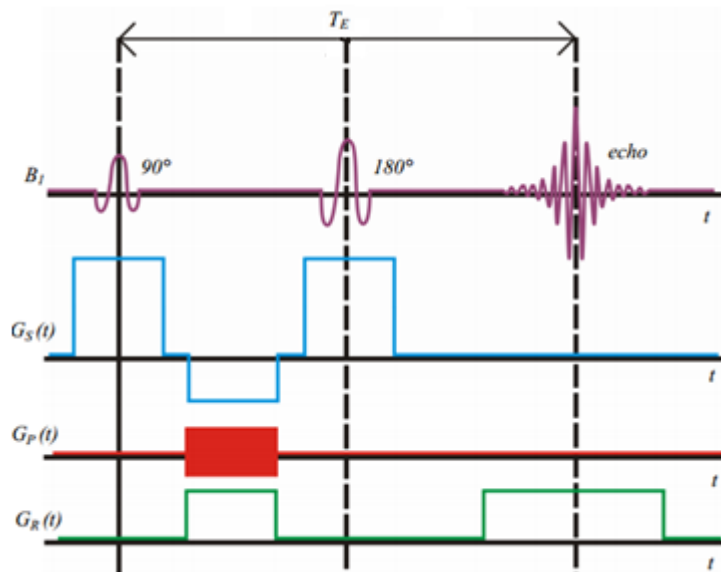
U tejto sekvencii je možné použiť aj menší prvý pulz a to  $10\text{--}30^\circ$ . V tomto prípade, použitím menšieho sklápacieho uhla nie je potrebný taký dlhý relaxačný čas ako pri klasickom  $90^\circ$  excitačnom RF pulzu. Vďaka tomuto sa nespotrebuje celá longitudinálna zložka magnetizácie, a tak zostane dosť aj pre nasledujúce série pulzov. Ide tu o rýchlu zobrazovaciu techniku, ktorá sa nazýva FLASH (z ang. „fast low angle shot“). Táto metóda patrí k jedným z najpoužívanejších.



**Obr. 7** Princíp GE sekvencie pre zobrazenie [7]

### 2.2.2. Sekvencia spinového echa (SE)

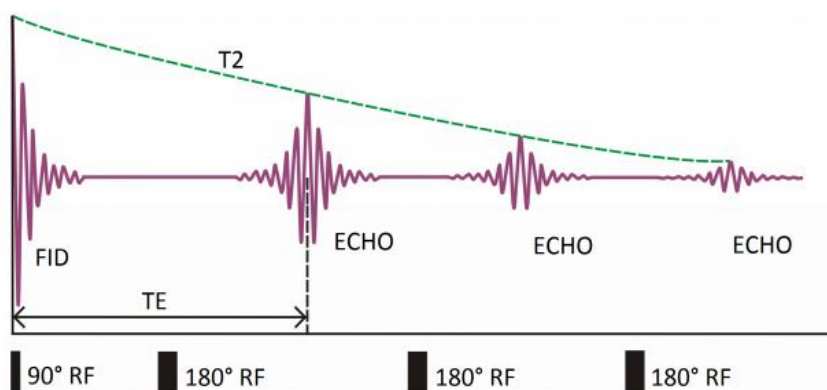
Ide o sekvenciu založenú na jednom  $90^\circ$  RF pulze a jednom alebo viacerých  $180^\circ$  RF pulzoch. Po aplikovaní  $90^\circ$  excitačného pulzu sa vektor magnetickej indukcie sklopí do roviny xy. Tu začínajú protóny konať precesný pohyb a prejavuje sa tu  $T_2$  relaxácia, kedy nastáva rozfázovanie vektoru tranzverzálny magnetizácie. Po určitom čase aplikujeme  $180^\circ$  RF pulz, ktorý preklopí rozfázovaný vektor o  $180^\circ$ , čiže stále zostávame v rovine xy, kde dochádza k opätovanému sfázovaniu, a teda sme schopní detekovať echo. Veľkosť nameraného signálu závisí na  $T_2$  relaxačnom čase.



**Obr. 8** Princíp spin-echo sekvencie pre zobrazenie [7]

Veľkosť signálu sme schopní zväčšovať, či zmenšovať aj menením TR a TE časov. Pri dlhom TR (2-3s) a krátkom TE nastáva situácia s nedostatočnou relaxáciou tkanív či vzoriek, a preto nami zobrazovaný obraz bude PD (protónová hustota) vážený. Pri dlhom TR a TE sa plne prejaví  $T_2$  relaxácia a tak výsledný obraz bude  $T_2$  vážený. S dlhým TR nie je intenzita ovplyvnená  $T_1$  relaxáciou, a preto ak chceme mať  $T_1$  vážený obraz, je nutné použiť výrazne kratší TR čas, typicky 300-800 ms. Aj tu nastávajú dva prípady a to krátke TR a dlhé TE, kde nie sme schopní vytvoriť kvalitný obraz, keďže malý vektor magnetizácie po krátkom TR pôsobením dlhého TE zanikne v šume pozadia a rozlíšenie je veľmi neefektívne. Naopak pri krátkom TR a krátkom TE sme schopní vytvoriť kvalitný  $T_1$  vážený obraz, keďže pri krátkom TR tkanivo nie je schopné plne zrelaxovať na maximum vektoru magnetizácie a pri krátkom TE nedochádza k výrazným prejavom  $T_2$ .

Na Obr. 9 môžeme vidieť viacnásobné echo, kde buď vytvoríme obrázok jeden a  $TE \ll T_2$  alebo jednotlivé echá rozoberieme do samostatných obrázkov a tie budú použité k  $T_2$  relaxometrii.



**Obr. 9** Závislosť  $T_2$  relaxácie na echo čase [7]

## 2.3. Relaxometrické meranie

*Na vypracovanie tejto kapitoly som využila literatúru [20], [21], [22], [23].*

Relaxometrické meranie alebo inak relaxometria je meranie relaxačných parametrov v NMR a v MRI. Pomocou tohto merania (nástroja) sme schopní sledovať pomalú dynamiku biologických i nebiologických vzoriek. Relaxačné časy závisia na intenzite jadra v spektrálnych pásmach odpovedajúcich Larmorovej frekvencii. Ide o jav, ktorý sme schopní popísať len štatisticky (fenomenologickým popisom), v ktorom vystupujú relaxačné časy  $T_1$  a  $T_2$  konkrétneho tkaniva v konkrétnom  $B_0$ . [20]

Meranie  $T_1$  a  $T_2$  je dôležité, keďže kontrast obrazu je založený na relatívnych príspevkoch z rôznych tkanív a vzoriek. Každé tkanivo a vzorka má vlastné relaxačné časy. Na ich získanie využívame práve relaxometriu, metódu kvantitatívneho merania relaxačných časov. Tá slúži k zisťovaniu relaxačných časových konštánt, prípadne relaxačných rýchlostí (prevrátená hodnota relaxačných časov). V praxi zisťujeme relaxačné časové konštanty iba pre jeden voxel, alebo pre všetky v danej snímke, čím vytvárame zo získaných hodnôt relaxačné mapy. Základom merania  $T_2$  relaxačného času je využitie sekvencie spin-echo s minimálne dvoma rôznymi TE a dlhou dobou TR (pre vylúčenie vplyvu  $T_1$  na intenzitu signálu). Pre získanie  $T_1$  relaxačného času sa využíva sekvencia s názvom inversion-recovery (IR)<sup>2</sup> alebo sekvencia s názvom saturation-recovery (SR)<sup>3</sup> s krátkym TE, v ktorých je intenzita signálu citlivá najmä na  $T_1$ . V klinickej praxi sa využívajú najmä na hodnotenie tkaniva mozgu, prsníkov, svalového a pečeneového tkaniva. [21]

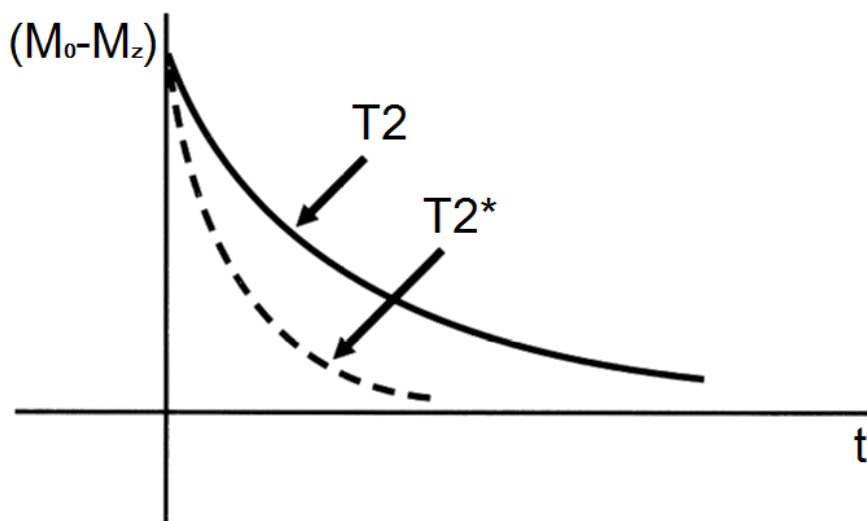
<sup>2</sup> IR je sekvencia, ktorá sa dá využívať za obrátenú verziu spinového echa, keďže tu najskôr aplikujeme  $180^\circ$  RF pulz a potom  $90^\circ$  RF pulz.

<sup>3</sup> SR sekvencia sa skladá z viacerých  $90^\circ$  RF pulzov za relatívne krátkeho TR.

Pri použití  $90^\circ$  RF (excitačného) pulzu a jedného či viacerých  $180^\circ$  RF (refokusačných) pulzov, dochádza k opakovanému sfázovaniu vektorov medzi  $180^\circ$  pulzmi – vzniku spinového echa. Použitím viacerých  $180^\circ$  RF pulzov dochádza k postupnému znižovaniu signálovej intenzity vplyvom  $T_2$  relaxácie. V tomto prípade sú lokálne magnetické polia vo vzorke neutralizované, a preto krivka, ktorá spája niekoľko po sebe idúcich éch, znázorňuje útlm signálu časom  $T_2$  ( $T_2$  krivka). U každého jednotlivého echa je pritom signál podrobený relaxácii  $T_2^*$ , ktorá vyjadruje pokles pričnej magnetizácie  $T_2$  relaxácie i rozpad jej makroskopickej koherencie v dôsledku lokálnych mikroskopických nehomogenít statického magnetického poľa. Rozdiel medzi  $T_2$  a  $T_2^*$  je v tom, že  $T_2^*$  závisí okrem náhodnej spin-spinovej interakcie aj na časovo relatívne stabilných nehomogenitách magnetického pola  $B_0$ . Irreverzibilná  $T_2$  relaxácia je daná spin-spinovou interakciou, charakterizujúcou materiál (tkanivo), zatiaľ čo  $T_2^*$  rozpad je vždy rýchlejší ako  $T_2$  rozpad (Obr. 10) a závisí napr. na homogenite/heterogenite (textúre) tkaniva. Oba relaxačné časy sme schopní dosadiť do nasledujúcej rovnice:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma \Delta B_0 \quad (3)$$

kde  $T_2^*$  a  $T_2$  sú relaxačné časy,  $\gamma$  je označenie pre gyromagnetický moment ( $^1\text{H}$  má  $\gamma=42,577$  MHz/T a  $^{19}\text{F}$  má  $\gamma=40,08$  MHz/T [12]),  $\Delta B_0$  je rozptyl  $B_0$  vo vnútri voxlu [23].



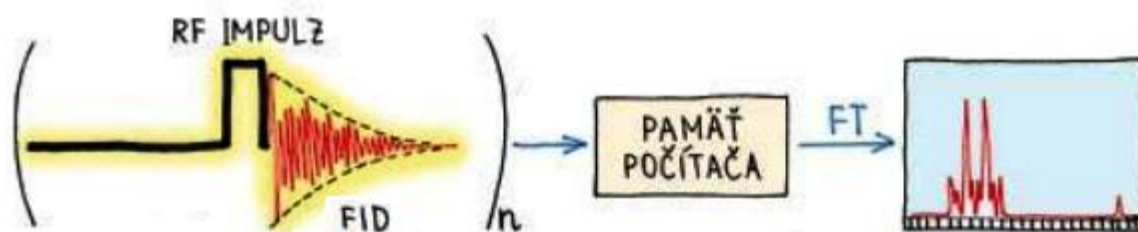
**Obr. 10** Porovnanie priebehu  $T_2^*$  a  $T_2$  krivky [23]

## 2.4. Spektroskopické meranie

*Na vypracovanie tejto kapitoly som využila literatúru [6], [24].*

Spektroskopické NMR meranie alebo inak aj NMR spektroskopia je metóda, ktorá meria chovanie atómových jadier v magnetickom poli a slúži k skúmaniu chemických vlastností vzoriek. Tie sme schopní merať vďaka chemickému posunu<sup>4</sup> jadier a ich spin-spinovej interakcii<sup>5</sup>. Tieto dva javy nám totiž umožňujú chemicky rozlíšiť spiny jedného druhu (nuklidu) v molekule. Vďaka týmto javom, spiny toho istého druhu v jednej molekule môžu mať rozdielne rezonančné frekvencie. Spektrum vzorku teda nemusí mať, ako sme predpokladali jeden pík, ale bude mať viacero voči sebe frekvenčne posunutých pík. Spektrá nám poskytujú informácie o zastúpení rôznych typov molekúl, ich štruktúre a dynamike.

Samotné spektrum vzoriek však dostaneme až po spracovaní signálu. Ako je uvedené vyššie excitáciou jadier pomocou RF pulzov získavame signál, pri návrate jadier do rovnovážneho stavu môžeme sledovať FID, čo je voľné doznievanie indukcie. Spektrum z tohto FID signálu získame použitím tzv. Fourierovej transformácie (FT), ktorá prevádza FID signál na frekvenčné spektrum.



**Obr. 11** Schéma aplikovania RF impulzu, získania FID signálu a nasledujúcej aplikácie Fourierovej transformácie na FID signál [6]

<sup>4</sup> Chemický posun je rozdiel rezonančnej frekvencie a frekvencie štandardu a závisí na frekvencii spektrometra. V nukleárnej magnetickej rezonancii odráža taktiež vplyv chemického okolia na rezonančnej frekvencii jadrového spinu vo vonkajšom magnetickom poli  $B_0$ . Na presnejšie určenie chemického posunu bola zavedená tzv.  $\delta$ -stupnica posunu s bezrozmernými jednotkami ppm. [24]

<sup>5</sup> Spin-spinová interakcie je ďalší efekt v NMR, ktorý ovplyvňuje spektrum vzorku. Môže ísť o nepriamu interakciu jadrových spinov cez kovalentné väzby. Tie spôsobujú štiepenie signálov NMR spektrách. Alebo môže ísť o priame interakcie, ktorých dôsledkom je vzájomné pôsobenie jadrových spinov priestorom. Tieto interakcie sú v anizotropnom prostredí. [24]



### 3. Magnetickorezonančné zobrazovanie fluóru

*Na vypracovanie tejto kapitoly som využila literatúru [12], [13], [15], [18], [19].*

Medzi základne parametre, ktoré sa dajú kvantitatívne zobrazovať patrí spinová hustota, ktorá je veľkosti signálu priamo úmerná a rada parametrov ( $T_1$ ,  $T_2$ , parametre difúzie, druhotne parametre sú napr. koncentrácia kontrastnej látky, pH a pod.), ktoré je nutné stanoviť matematickým modelovaním vhodnej funkčnej súvislosti medzi týmto parametrom a intenzitou signálu vo vhodnom súbore meraní.

Spinová hustota  $^1\text{H}$  sa príliš nepoužíva, pretože ako marker tkanív, ich zmien je neefektívna a ako marker molekúl alebo častíc nevhodná pre intenzitu pozadia (voda, tuk, a iné). Naproti tomu spinová hustota  $^{19}\text{F}$  ako marker použitá môže byť, pretože v tkanivách neexistuje prirodzené pozadie.  $^{19}\text{F}$  má zastúpeniu v organizme, iba vo viazanej forme a nevykazuje žiadny signál okolitého tkaniva tak ako poznáme z  $^1\text{H}$  MRI. Prvýkrát bola  $^{19}\text{F}$  MRI vykonaná Hollandom a oš a to 4 roky po vývoji  $^1\text{H}$  MRI. Prvý krát bola vykonaná v 70 rokoch 20 storočia. [13]

#### 3.1. Vlastnosti $^{19}\text{F}$ MRI

$^{19}\text{F}$  má spin  $\frac{1}{2}$ , gyromagnetický moment 40,08 MHz/T, pri prirodzenom 100% izotopovom zastúpení je výsledná citlivosť 83% oproti  $^1\text{H}$  [13]. Chemický posun je citlivejší na molekulárne prostredie jadier  $^{19}\text{F}$ , keďže fluór má 7 valenčných elektrónov, jeho spektroskopický podpis má rozsah  $>200\text{ppm}$ , a tak umožňuje jednoznačnú identifikáciu zlúčenín obsahujúcich  $^{19}\text{F}$ . Vďaka týmto vlastnostiam je preferovanou sondou MRI, a to najmä kvôli vysokej citlivosti, unikátnemu podpisu atómov a neexistujúcemu pozadiu tkaniva, a taktiež sa  $^{19}\text{F}$  100% vyskytuje v prírode. Fluór nachádzajúci sa v imobilizovanej forme v kostiach a zuboch, vykazuje krátku  $T_2$  relaxačnú dobu, vďaka čomu nie je tak dobre viditeľný. Do vlastností  $^{19}\text{F}$  môžeme ešte zahrnúť podobnosť Van der Waalsových polomerov z  $^1\text{H}$  ( $^{19}\text{F}$  má 1,35 Å a  $^1\text{H}$  má 1,2 Å

#### 3.2. Zlúčeniny obsahujúce $^{19}\text{F}$ - perfluórové uhl'ovodíky (PFCs)

Sledovanie buniek a značenie nádorov pomocou  $^{19}\text{F}$  zlúčenín je veľmi mladá metóda, ktorá môže ponúknuť jedinečné výhody. Využívajú sa vďaka svojej netoxickosti a stabilite. Škála ich použitia je široká.

PFC je skupina uhl'ovodíkov, ktoré majú atómy vodíka plne nahradene atómami  $^{19}\text{F}$  a majú mimoriadne silnú kovalentnú väzbu medzi fluórom a uhlíkom. Svojou štruktúrou sa podobajú na organické zlúčeniny. Sú biologicky stabilné, a ako bolo

spomínané vyššie aj netoxické. Odvodené sú synteticky a zvyčajne sú to číre a bezfarebné kvapaliny, ktoré nie sú rozpustné vo vode. Napriek tejto skutočnosti a nízkej vodivosti, objemovej hustote a medzifázovému povrchovému napätiu je možné vytvoriť stabilné nanočastice týchto zlúčenín. Vďaka týmto schopnostiam sú PFC schopné rozpúšťať kyslík, oxid uhličitý a dusík. Organizmus ich však nie je schopný odstrániť metabolizmom, a preto sú odstraňované krvným obehom a vylučované dýchaním do ovzdušia. Všetky PFCs zlúčeniny musia byť pred biologickou aplikáciou emulgované do nanočasticových foriem z dôvodu prekonania hydrofóbného a lipofóbného obmedzenia pri príprave. Všetky PFC nanočastice formulované v laboratóriách pozostávajú z kvapalného PFC jadra zapuzdrovaného v lipidovej monovrstve, vďaka čomu máme vysokú koncentráciu  $^{19}\text{F}$  atómov ( $\sim 100\text{M}$ ) pre  $^{19}\text{F}$  MRI. Nanočastice sú natoľko veľké (ich priemer je okolo 200 nm [15]), že nepretiekajú von z neporušeného krvného riečišťa ale sú vymývané retikuloendotelovým systémom a pomocou makrofágov. Krvný polčas rozpadu týchto zlúčenín sa mení s ich veľkosťou, ale inak sa pohybuje v rozmedzí 2-12 hodín. Optimálne činidlá (kontrastné) musia spĺňať určité kritéria a to:

- chemická stabilita;
- jednoduché  $^{19}\text{F}$  NMR spektrum ;
- krátke  $T_1$  a dlhé  $T_2$  čo minimalizuje akvizičný čas [19].

PFC používané v MRI sa rozdeľujú do piatich skupín:

- a) aromatické a nesytené PFCs (napr. hexafluórbenzén)
- b) lineárne sýtené PFCs (napr. PFOB)
- c) cyklické nasýtené PFCs (napr. perfluórdecalin)
- d) perfluóramíny
- e) perfluóretéry a polyétery (napr. PFCE, PFPE)

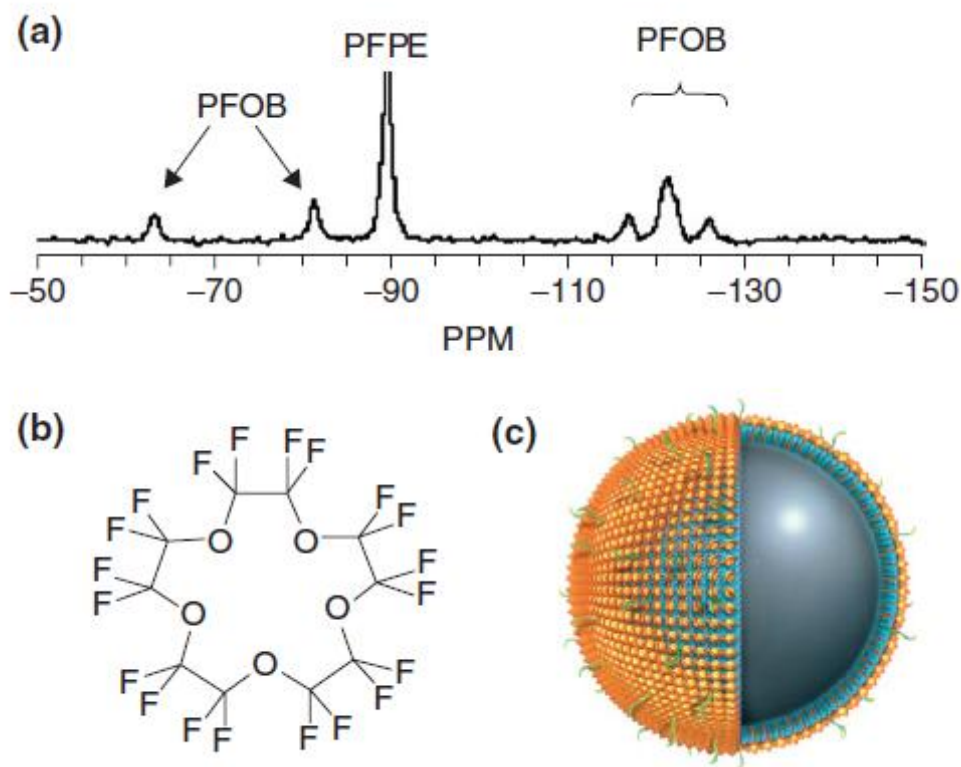
Najčastejšie využívané PFC nanočastice v laboratóriách pozostávajú z:

- 40% (v/v) perfluóroktyl brómu (PFOB);
- 2% (w/v) saflórový olej;
- 2% (w/v) povrchovo aktívna zmes;
- 1,7% (w/v) glyceról;
- vodná bilancia [13].

Pridávaním ďalších látok k týmto emulziám je možné ovplyvňovať stabilitu prípravku. Pridaním paramagnetických častíc je možné zvýšiť signálovú intenzitu a SNR a naopak znížiť  $T_1$  relaxačný čas. Táto úprava nám umožňuje získať veľký počet skenov s kratším TR v rovnakom skenovacom čase.

Ďalšími využívanými PFCs nanočasticami sú kationové a aniónové nanočastice perfluór-15-korunného-5-éteru(PFCE), ktorý sa využíva najmä na značenie kmeňových buniek (NSCs), viz. 4.1.

Ich lineárna forma (nami využívaná vo forme Fomblin<sup>®</sup> PFPE Lubricant Y LVAC 06/6) spĺňa všetky z vyššie uvedených podmienok pre MRI čidlá. Tak ako PFCE je syntetizovaná z analógových hydrouhlíkov priamou fluoráciou. V minulosti boli tieto perfluórové uhľovodíky ako prvé použité na *in vivo* značenie diabetických myší. [19]



**Obr. 12 a)** Spektroskopický podpis perfluórpolyéterových (PFPE) a perfluórokytlbromidových (PFOB) nanočastíc. Môžeme tu vidieť jeden PFPE vrchol a päť PFOB vrcholov, ktoré sú ľahko detekovateľné; **b)** chemická štruktúra PFPE; **c)** schéma PFPE nanočastice s naviazanými ligandami na fosfolipidovej monovrstve (zelené). [13]

Perfluórokytl bromid je lineárny perfluórový uhľovodík, ktorý bol medzi prvými použitý ako <sup>19</sup>F MRI čidlo využívané na značenie. V minulosti bol použitý na snímanie kyslíka, zobrazovanie nádorov či bunkové značenie. Je hydrofóbny, no na rozdiel od väčšiny PFCs má malú (obmedzenú) lipofilicitu, ktorá je spôsobená kovalentou väzbou s bromidom. [19]

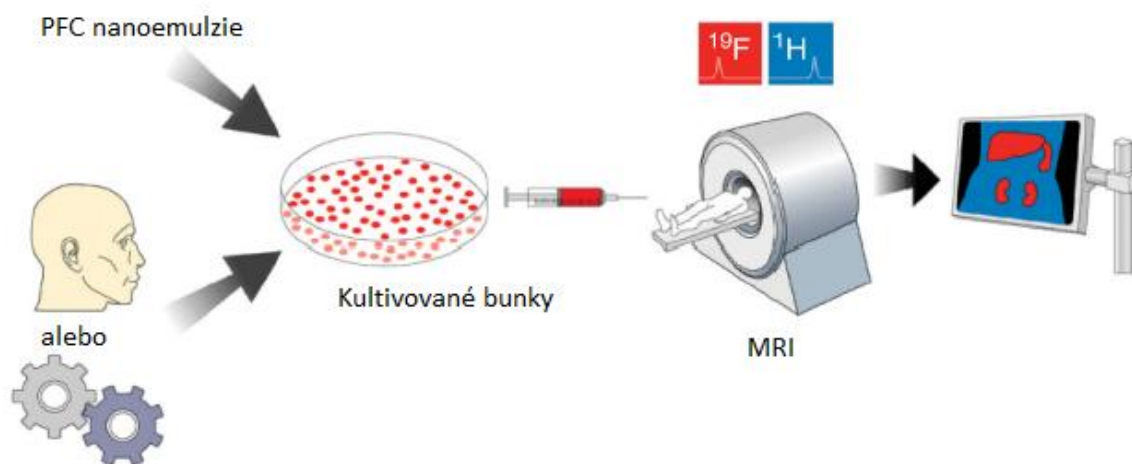
## 4. Využitie $^{19}\text{F}$ MRI

### 4.1. MRI kmeňových buniek v strede záujmu

*Na vypracovanie tejto podkapitoly som využila literatúru [15].*

Na MRI sledovanie kmeňových buniek používame porovnávanie bunkovej internalizácie kationovými a aniónovými PFCE nanočastíc použitím plátov s bunkovými kultúrami. Kationové PFCE nanočastice sú lepšie pre intracelulárnu fluoráciu ako aniónové častice. Nervové kmeňové bunky značené PFCE boli vpichované do striata myšieho mozgu, kde boli ľahko identifikovateľné pomocou  $^{19}\text{F}$  MRI. Identifikované boli in vivo aj po viac ako 2 týždňoch po podaní [15]. Vďaka tomuto sme schopní povedať, že  $^{19}\text{F}$  MRI nám povoľuje vizualizáciu značených buniek v reálnom čase. Sme schopní sledovať ich pohyb a biodynamiku.

Ako hovorí samotný názov podkapitoly, táto technika sa využíva najmä na sledovanie účinnosti terapie pomocou kmeňových buniek. Podávané bunky sú inkubované spolu s kontrastnými látkami in vitro, čo nám umožní označiť bunky pred podaním do in vivo systému. Pri inkubácii značíme bunky zabudovaním nanočastíc do buniek, a to pomocou fagocytózy, alebo vďaka interakcii protilátka - receptor, čiže priamym spojením s bunkovým povrchom.



**Obr. 13** Názorná ukážka značenia kmeňových buniek PFC nanoemulziami. Značené bunky sú následne transplantované do subjektu a zobrazené pomocou  $^{19}\text{F}$  a  $^1\text{H}$  MRI.  $^1\text{H}$  MRI je dôležitá, kvôli správnej lokalizácii. [19]

## 4.2. Pro-liečivá

*Na vypracovanie tejto podkapitoly som využila literatúru [12].*

$^{19}\text{F}$  MRI poskytuje špecifický spôsob pre skúmanie liečiv a ich metabolizmu pomocou produktov (zlúčenín), ktoré obsahujú fluórové atómy. Medzi najbežnejšie využívané liečivá patrí napr. fluórdeoxyglukóza, 5-fluóruracil, flurazenpam a iné. Pri štúdií týchto liečiv nás zaujíma najmä ich chemická štruktúra, katabolizmus, anabolizmus, ich distribúcia na určené miesto. Zameriavame sa ale aj na farmakokinetiku in vivo a v odstránenom tkanive.

Tu môžeme uviesť farmakokinetické štúdium protinádorových liečiv 5-FU (5-Fluóruracil). Protinádorové liečivá 5-FU sú v súčasnej dobe, po mnohých rokoch skúmania bežne používané v rádioterapii a chemoterapii. Využívajú sa pri liečení mnohých neoplastických chorôb, najmä však pre nádory hlavy, krku, trupu, kolorektálne nádory a pri niektorých nádoroch dýchacieho systému.

Tieto liečivá sú však pre toxicitu 5-FU vpravované vo forme prekurzorov. Sú navrhnuté tak, aby cez gastrointestinálny trakt prešli neporušené až na určené miesto. Tu sú selektívne prevádzané na 5-FU. Tento selektívny prevod sa udeje vďaka zvýšenej aktivite tymidín fosforylázy v malígnom nádore. Medzi jedno s týchto pro-liečiv patrí aj kapecitabín, ktorý znižuje ožarovanie zdravých tkanív 5-FU.

## 4.3. $^{19}\text{F}$ MRI oxymetria

*Na vypracovanie tejto podkapitoly som využila literatúru [12], [16], [17].*

$^{19}\text{F}$  MRI oxymetria je metóda používaná k zobrazeniu nádorovej hypoxie. Hypoxia je jeden z najtypickejších javov, ktoré charakterizujú nádorové tkanivo. Hypoxia predstavuje stav tkaniva, v ktorom tkanivo nie je dostatočne okysličené. Hypoxia negatívne ovplyvňuje liečbu rakovinu a má negatívne dôsledky aj pri samotnom priebehu nádorového ochorenia. Je dokázané, že nádorové bunky a bunky tkaniva v okolí nádoru sú viac odolné voči terapii pri nedostatočnom okysličení. Okolité tkanivo je schopné rýchlejšie mutovať a meniť sa na nádorové. V roku 1953 bola po prvýkrát objasnená úloha kyslíka v protinádorovej terapii. Bolo zistené, že hypoxické bunky sú trikrát odolnejšie voči terapii ako dobre okysličené. Pri dostatočnom okysličení buniek sa totiž po absorbovaní radiácie začnú tvoriť v bunkách voľné radikály, ktoré spôsobia usmrtenie bunky. Hypotoxické bunky však tieto radikály netvoria. [16]

$^{19}\text{F}$  MRI oxymetria je používaná ako prediktor odpovede nádoru na liečbu, ale taktiež je využívaná na tvorbu hypoxických máp a pri riadenej nádorovej terapii. Samotná metóda poskytuje citlivé a kvantitatívne meranie medzipriestorovej kyslíkovej

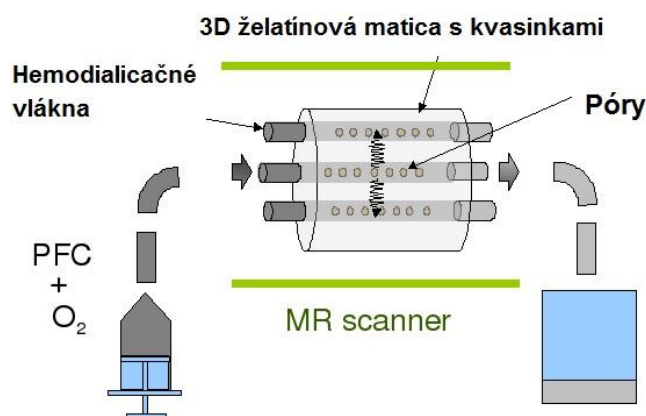
koncentrácie. Využíva sa tu exogénny fluór ako marker na značenie kyslíka. Vieme totiž, že longitudinálna relaxačná rýchlosť prefluorovaných uhľovodíkov rastie s koncentráciou rozpustného kyslíka lineárne.

## 5. Návrh fantómu pre $^{19}\text{F}$ MRI oxymetriu z literatúry

*Na vypracovanie tejto kapitoly som využila literatúru [14], [16].*

Prekrvenie a okysličenosť nádoru je veľmi dôležitý poznatok k úspešnej liečbe. Účinnosť liečby rakoviny totiž znižuje nádorová hypoxia, keďže tieto bunky sú odolnejšie voči rádioterapii a chemoterapii.

Fantóm (Obr. 14), ktorý bol vytvorený pre túto štúdiu nádorovej hypoxie S. H. Beate a Y. De Deene na belgickej univerzite Ghent, simuluje dobre prekrvené tkanivo. Samotný fantóm pozostáva z hemodialyzačného filtra, ktorý simuluje tkanivo spotrebúvajúce kyslík. Duté hemodialyzačné vlákna, ktoré sa vo filtri nachádzajú predstavujú cievy a preteká nimi perfluorovaný uhlíkovodík (PFC) s rôznou koncentráciou rozpustného kyslíka. Krvný prietok je simulovaný injekčnou striekačkou, ktorá pumpuje PFC do vlákien. Tkanivo je nahradené želatínovým gélom obsahujúcim živé kvasinky.



**Obr. 14** Nákras navrhovaného fantóma [14]

Komplikovanosť tohto fantómu, najmä v homogénnom vtlačení želatínového gélu do dialyzačného filtra, nám zabránila jeho realizovanie v rámci tejto bakalárskej práce.

## 6. Optimalizácia parametrov merania a využité fantómy

Na predklinickom MR systéme Bruker Biospec 94/30 sme previedli optimalizačné merania na objemovej  $1\text{H}/19\text{F}$  rádiofrekvenčnej cievke (40 mm) a fantóme od Bruker Biospec s.r.o.. Toto prvotné meranie viedlo následne k ďalším optimalizačným meraniam, na už nami vytvorených fantómoch. Prvým bol fantóm tvorený 5, po úprave 4 eppendorfkami naplnenými rôznymi koncentraciami kyseliny trifluóroctovej a druhý bol sklenený fantóm obsahujúci tyčinky, ktoré boli plnené lineárnym PFPE. Parametre k jednotlivým fantómom a meraniam sa nachádzajú v nasledujúcich podkapitolách.

Koncentrácia fluóru v jednotlivých fantómoch je odlišná, a preto bolo nutné, aby sme parametre pre jednotlivé merania optimalizovali zvlášť.

**Tabuľka 1** Koncentrácie fluóru v jednotlivých zlúčeninách použitých vo fantómoch.

Fantóm		Koncentrácia fluóru [mol/l]
Trifluóretanol (Bruker Biospec s.r.o.)		$29,4 \cdot 10^{-3}$
Kyselina trifluóroctová (eppendorfky)	100 %	40,4
	10%	4,04
	5%	2,02
	2,5%	1,01
	1,25%	0,505
Lineárne PFPE (Fomblin – sklenený fantóm s tyčinkami)		67

Jednotlivé koncentrácie sú vypočítané z chemických vzorcov a tabuľkových hodnôt, pomocou jednoduchých vzorcov.

Pred samotným prevedením týchto optimalizačných meraní, bolo nutné, naučiť sa pracovať so samotným systémom za použitia  $1\text{H}$  cievok, ktoré sa bežne využívajú. Ďalším krokom bolo naučiť sa ovládať cievku  $1\text{H}/19\text{F}$ , ktorá bežne využívaná nie je. Táto RF cievka je komplikovanejšia, keďže pre jej správne fungovanie je nutné manuálne nastavenie celého systému.



## 6.1. Fantóm Bruker Biospec s.r.o.

Prvé merania na optimalizáciu systému sme prevádzkali na fantóme potkanej hlavy (viz. Obr. 15), ktorý je daný výrobcom (zloženie fantómu – 50 ml destilovanej vody, 37  $\mu$ l trifluóretanolu a 3,6 g/l NaCl). Z parametrov využívaných pri meraní sme zostavili tabuľky a za pomoci najlepšieho pomeru signál-šum (ďalej len SNR) sme určili najlepšie parametre využiteľné pri ďalšom meraní. Počas optimalizácie sme využívali sekvenciu RARE<sup>6</sup> a obmieňali jednotlivé parametre (TR, TE, Tx0, Tx1, šírka pásma, RARE faktor), viz Tabuľka 2, Tabuľka 3 Tabuľka 4, Tabuľka 5.



Obr. 15 Bruker Biospec fantóm „Rat Head“

Tabuľka 2 Zmeny v TR

FOV [cm]	Hrúbka vrstvy [mm]	TR [ms]	TE [ms]	Priemerovanie	Tx0 [dB]	Tx1 [dB]	Receiver gain (zosílenie) <sup>7</sup>	RARE faktor	Šírka pásma [kHz]	SNR
6	5	500	15.6	40	6	6	203	8	5	1.50
6	5	1000	15.6	40	6	6	203	8	5	2.84
6	5	1500	15.6	40	6	6	203	8	5	4.21
6	5	2000	15.6	40	6	6	203	8	5	5.10

Tabuľka 3 Zmeny v útlme (sklápacích uhlov)

FOV [cm]	Hrúbka vrstvy [mm]	TR [ms]	TE [ms]	Priemerovanie	Tx0 [dB]	Tx1 [dB]	Zosílenie	RARE faktor	Šírka pásma [kHz]	SNR
6	5	2000	15.6	40	6	6	203	8	5	5.10
6	5	2000	15.6	40	12	6	203	8	5	4.43
6	5	2000	15.6	40	6	0	203	8	5	6.57
6	5	2000	15.6	40	0	-6	203	8	5	1.32

<sup>6</sup> RARE – rapid acquisition with relaxation enhancement – SE s viacnásobným 180°RF pulzom - po 90° excitačnom pulze nastáva niekoľko 180° refokusačných pulzov

<sup>7</sup> Receiver gain – zosílenie výstupného signálu voči signálu získanému, nastaviteľný parameter

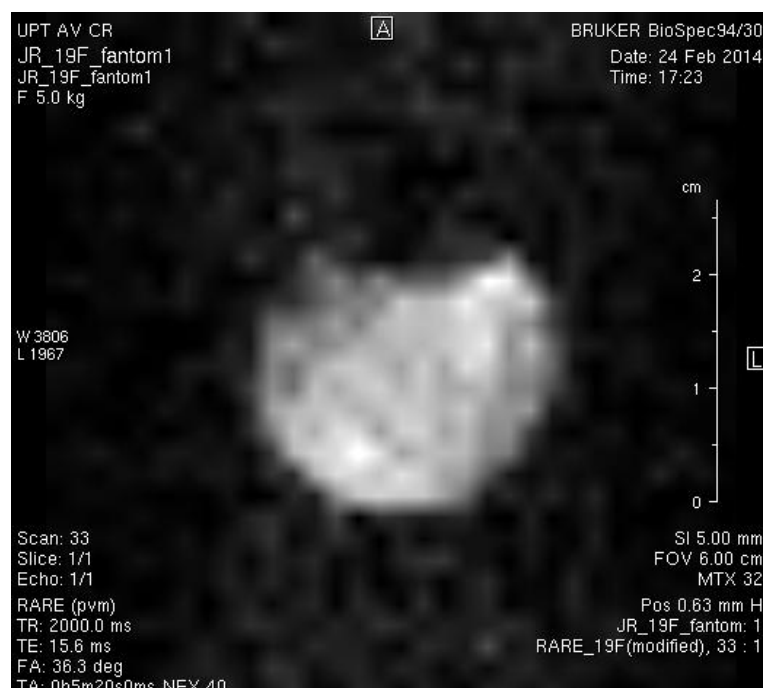
**Tabuľka 4** Zmeny v TE

FOV [cm]	Hrúbka vrstvy [mm]	TR [ms]	TE [ms]	Priemerovanie	Tx0 [dB]	Tx1 [dB]	Zosílenie	RARE faktor	Šírka pásma [kHz]	SNR
6	5	2000	14.4	40	6	6	203	8	20	2.61
6	5	2000	15.6	40	6	6	203	8	20	2.35

**Tabuľka 5** Zmena v RARE faktore

FOV [cm]	Hrúbka vrstvy [mm]	TR [ms]	TE [ms]	Priemerovanie	Tx0 [dB]	Tx1 [dB]	Zosílenie	RARE faktor	Šírka pásma [kHz]	SNR
6	5	2000	14.4	40	6	6	203	4	5	4.52
6	5	2000	15.6	40	6	6	203	8	5	5.10

Prenastavovaním jednotlivých parametrov sme sa snažili dostať čo najlepší signál, ktorý sme dostali pri nasledujúcich parametroch: matica 32x32, FOV 6 cm, hrúbka vrstvy 5mm, TR 2000 ms, TE 15,6 ms, šírka pásma 5 kHz a útlm sklápacích uhlov Tx0 6dB a Tx1 0dB a zosílenie výstupného signálu 203 (použité pre všetky merania) - Obr. 16.



**Obr. 16** Obraz s najväčším pomerom signál – šum (SNR = 6,57)  
(prebrané z ParaVision 5.1)

Následne sme ešte zvýšili repetičný čas, čo však už nevedlo k ďalšiemu zvyšovaniu SNR (Obr. 17)

Ďalším krokom bolo optimalizovať parametre aj pre inú sekvenciu. Zvolili sme si sekvenciu MSME<sup>8</sup>, viz. Tabuľka 6.

**Tabuľka 6** Optimalizáciou sekvencie MSME a zvýšenie TR pre sekvenciu RARE

Sekvencia	FOV [cm]	Hrúbka vrstvy[mm]	TR [ms]	TE [ms]	Priemerovanie	Tx0 [dB]	Tx1 [dB]	Zosílenie	SNR
RARE	6	5	2500	15,6	40	6	0	203	6,57
RARE	6	5	3000	40,6	40	6	0	203	6,32
MSME	6	5	1500	14	20	6	0	203	2,83
<b>MSME</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>2000</b>	<b>14</b>	<b>20</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>203</b>	<b>3,75</b>

Optimalizované parametre pre sekvenciu MSME sú nasledovné: TR 2000 ms, TE 14 ms, priemerovanie 20 (viz. Obr. 18). Ostatné parametre sú zachované z predchádzajúceho optimalizovania sekvencie RARE.



**Obr. 17** Obrázok zobrazený pomocou sekvencie RARE, s TR 3000 ms a TE 40,6 ms (zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR <sup>9</sup>)

<sup>8</sup> MSME sekvencia - multi-slice multi-echo, jedná sa o rýchlu sekvenciu, ktorá využíva viacero za sebou idúcich éch.

<sup>9</sup> U obrazov zobrazených programom MAREVISI ide o absolútnu hodnotu a lineárnu (odmocninovú) stupnicu jasů.



**Obr. 18** Obrázok zobrazený pomocou sekvencie MSME, TR 2000 ms a TE 14 ms (najvyššie SNR) (zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)

Pre porovnanie uvádzame aj vodíkový obraz (viz. Obr. 19):



**Obr. 19** Vodíkový obraz vytvorený sekvenciou RARE (zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)

## 6.2. Fantóm citlivosti

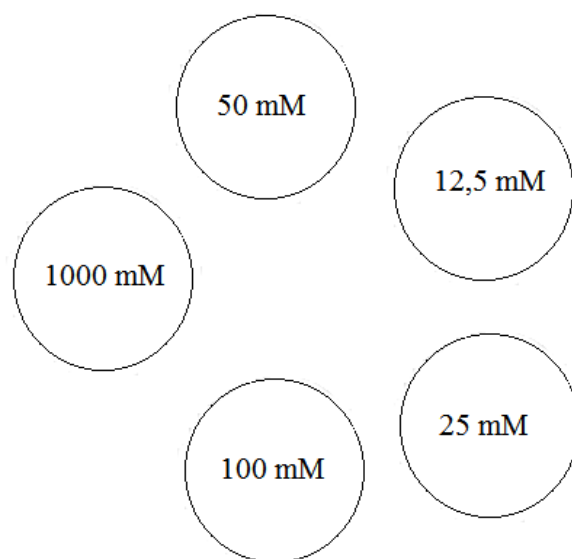
Ďalším nami vytvoreným fantómom bol fantóm na citlivosť tvorený piatimi mikroskúmvkami Eppendorf (tzv. eppendorfky). Tie boli naplnené kyselinou trifluóroctovou a jej rôznymi koncentráciami (1000 mM, 100 mM, 50 mM, 25 mM a 12,5 mM), viz. Obr. 20. Pri optimalizácii parametrov u tohto fantómu sme sa stretli s problémom, s ktorým sem nepočítali. Signál z eppendorfky s najväčšou koncentráciou nám zatieňoval signál z ostatných eppendorfiiek a tie neboli viditeľné tak, ako by sme očakávali (viz. Obr. 22).

Pri optimalizácii sme používali už získané parametre s predchádzajúceho fantómu (viz. Tabuľka 7).

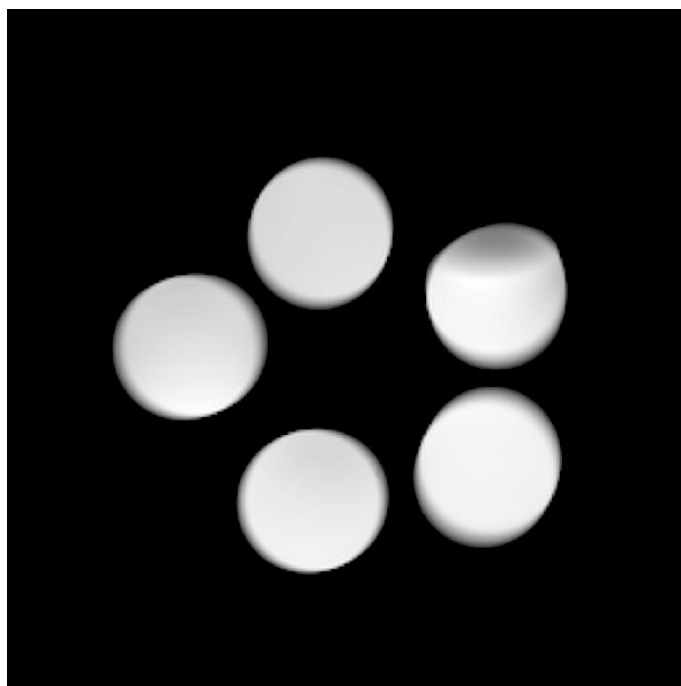
**Tabuľka 7** Optimalizované parametre pre fantóm s piatimi eppendorfkami

Sekven- cia	FOV [cm]	Hrúbka vrstvy [mm]	TR [ms]	TE [ms]	Prieme- rovanie	Tx0 [dB]	Tx1 [dB]	Matica	Koncent- rácia [mM]	SNR
RARE	4	6	2500	46,6	40	6	0	32x32	1000	199,41
									100	20,24
									50	17,13
									25	13,32
									12,5	7,10
RARE	8	10	2500	46,6	10	6	0	256x256	1000	176,92
									100	13,50
									50	11,71
									25	8,89
									12,5	4,36

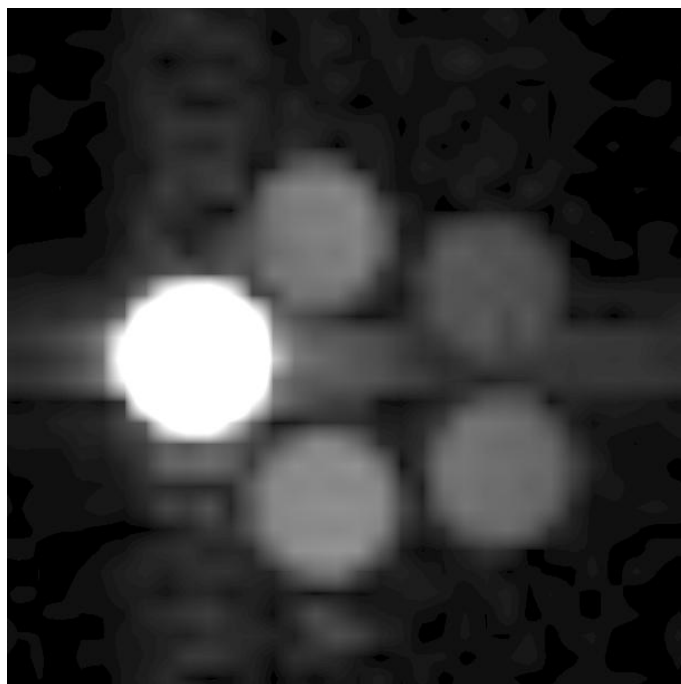
V tabuľke je viditeľné, že vyšší signál, sme dostali pri vyššom priemerovaní. Na Obr. 22 je vidieť ako signál z eppendorfky s najväčšou koncentráciou zatieňuje ostatné signály, získané s eppendorfiiek s nižšími koncentráciami.



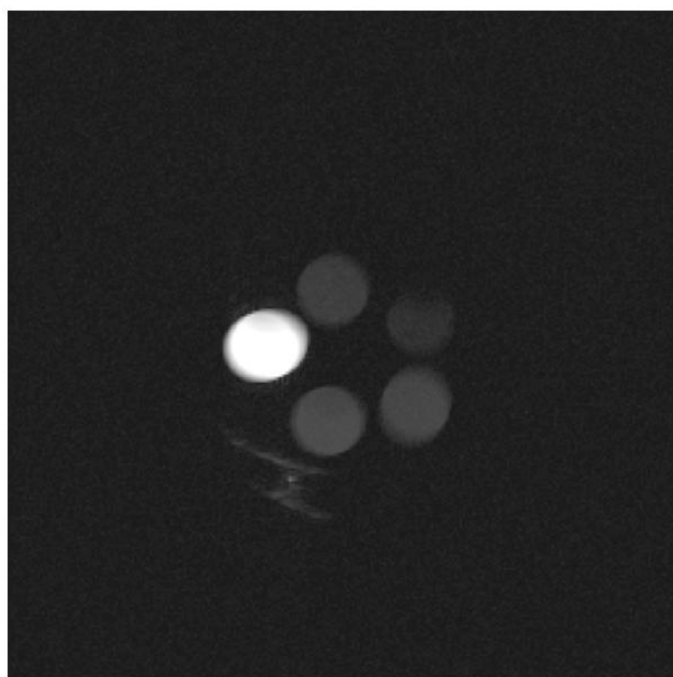
**Obr. 20** Rozloženie koncentrácií v obrazoch s piatimi eppendorfkami



**Obr. 21** Vodíkový obraz vytvorený základnou sekvenciou TRIPILLOT  
(zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)



**Obr. 22** Obrázok zobrazený pomocou sekvencie RARE a priemerovaním: 40 (najvyššie SNR) (zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)



**Obr. 23** Obrázok zobrazený pomocou sekvencie RARE a priemerovaním: 10 (zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)

Aby sme vyššie popisovanému javu predišli, vybrali sme eppendorfku s najvyššou koncentráciou, ktorej SNR bolo rádovo 10-krát vyššie ako SNR z ostatných eppendorfiiek. Vďaka tomu sme získali evidentný signál z každej eppendorfky.

V tomto bode sme začali aj s optimalizáciou pre ďalšiu sekvenciu, ktorou bola opäť sekvencia MSME. Použitá matica mala veľkosť 32x32, útlm sklápacích uhlov Tx0 je 6 a Tx1 je 0, zosílenie bolo 203 a ostatné parametre pre každú sekvenciu sú v Tabuľka 8.

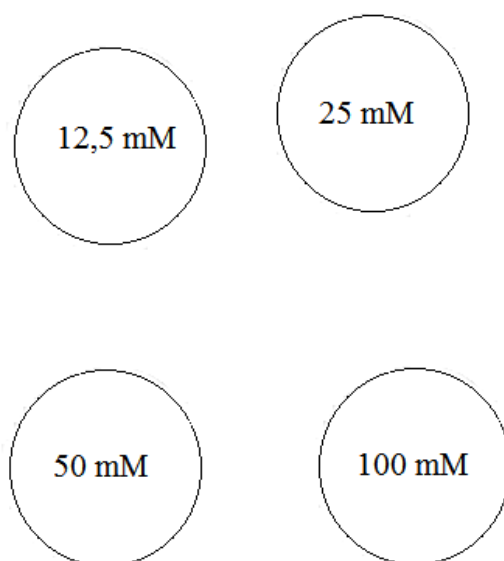


**Obr. 24** Fantóm citlivosti so 4 eppendorfkami

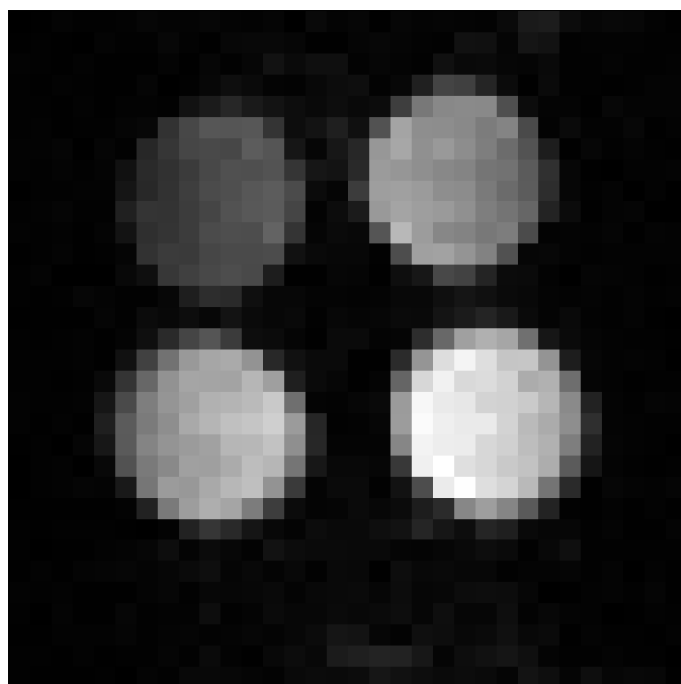
**Tabuľka 8** Optimalizované parametre pre jednotlivé sekvencie

Sekvencia	FOV [cm]	Hrúbka vrstvy [mm]	TR [ms]	TE [ms]	Priemerovanie	Koncentrácia [mM]	SNR
<b>RARE</b>	3	10	2500	46,6	80	100	79,71
						50	61,43
						25	50,57
						12,5	26,80
<b>MSME</b>	3	10	200	7,6	10	100	28,99
						50	20,87
						25	20,04
						12,5	8,41

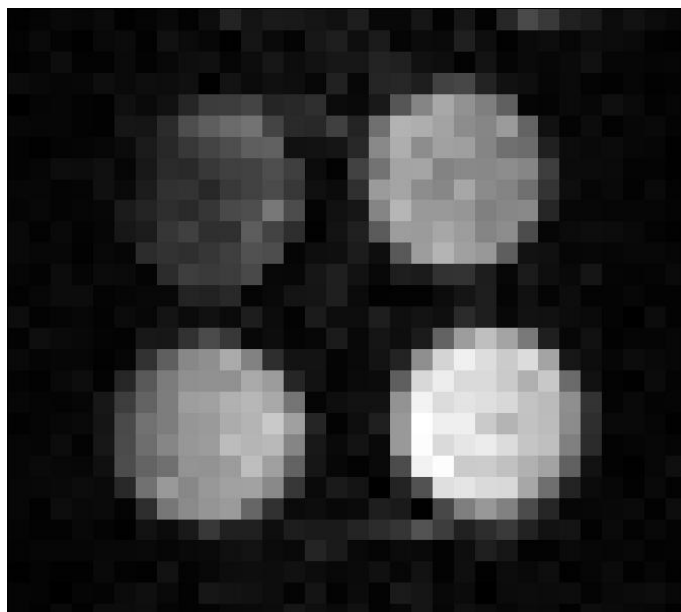




**Obr. 25** Rozloženie koncentrácií v obrazoch so štyrmi eppendorfkami

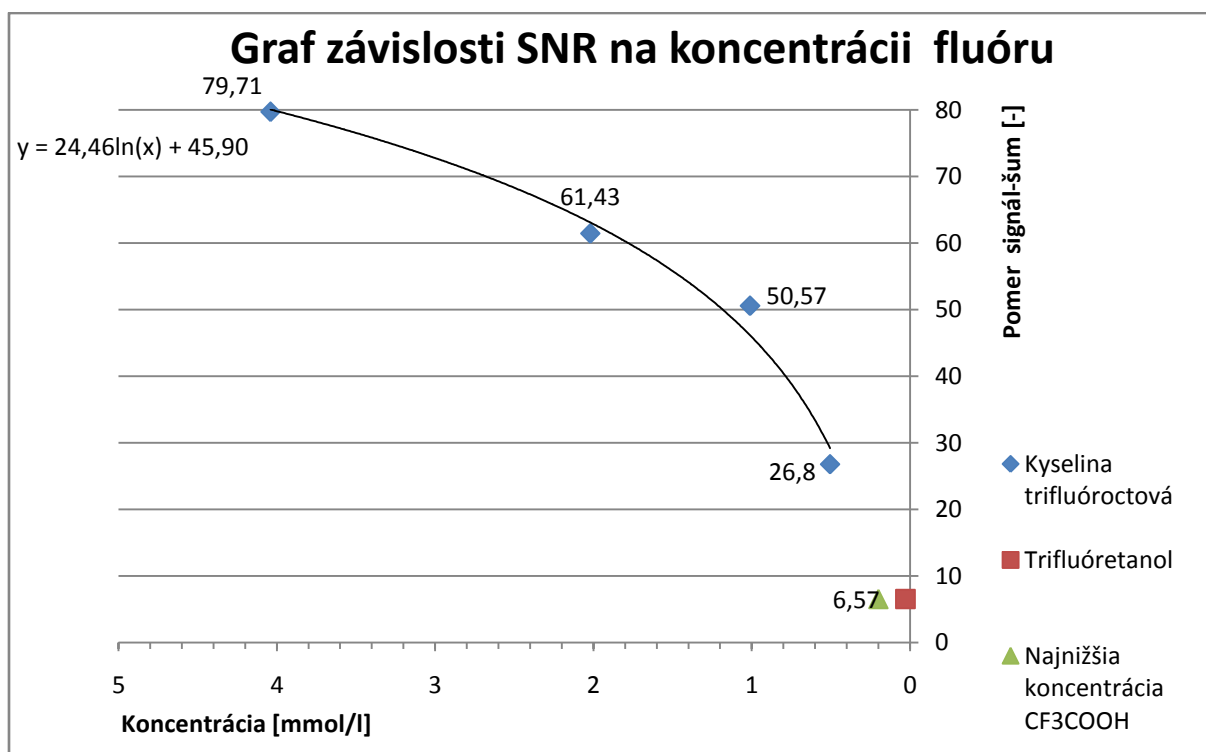


**Obr. 26** Obraz zobrazený pomocou sekvencie RARE  
(zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)



**Obr. 27** Obrázok zobrazený pomocou sekvencie MSME  
(zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)

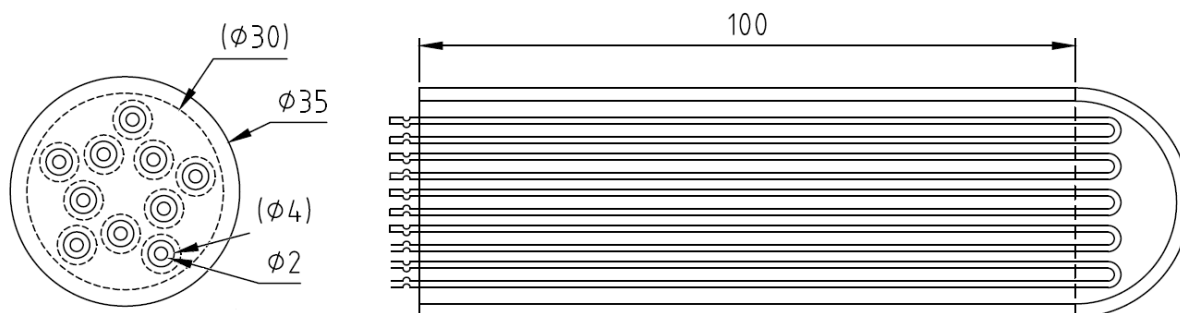
Vysoký signál v jednotlivých eppendorfkách nám potvrdil, že by bolo možné koncentráciu v jednotlivých eppendorfkách ešte znižovať, čo nám potvrdzuje aj získané SNR z predchádzajúceho fantómu, kde pre sekvenciu RARE bol tento pomer 6,57, čo je 4-krát menšie SNR ako u najmenej koncentrácie v eppendorfkách. Pomocou trendovej čiary a jej rovnice (presnosť je 98%), ktorá sa nachádza v grafe (viz. Obr. 28) sme zistili, že by sme boli schopní zobraziť s danými parametrami ešte aj koncentráciu 0,2 M/l. U sekvencie MSME je tento rozdiel len dvojnásobný. V tomto prípade, je ale klesanie SNR dosť skokové (medzi koncentráciou 25 a 12,5 mM), a tak nemôžeme s presnosťou určiť najnižšiu možnú zobrazenú koncentráciu kyseliny trifluóroctovej.



**Obr. 28** Graf závislosti SNR na koncentrácii fluóru v jednotlivých fantómoch

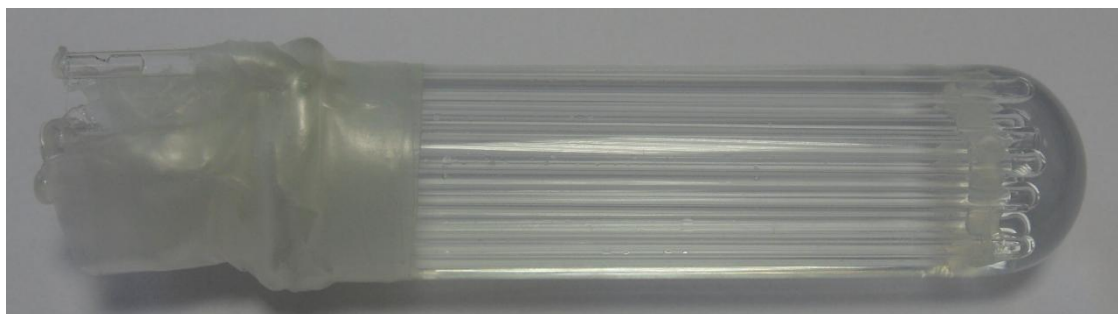
### 6.3. Tyčinkový fantóm s lineárnym PFPE

Pri vytváraní tohto fantómu sme sa inšpirovali fantómom na oxymetriu (valec obsahujúci tyčinky).



**Obr. 29** Návrh fantómu

Fantóm (Obr. 29, Obr. 30, Obr. 31) je tvorený sklenenou bankou o dĺžke zhruba 12 cm, vonkajšom priemere 3,5 cm a vnútornom priemere 3 cm. Ďalej je tvorený tyčinkami o vonkajšom priemere 4 mm a vnútornom priemere 2 mm. Fantóm obsahuje jednu plniacu tyčinku, pomocou ktorej je plnená sklenená banka rýchlou vodou<sup>10</sup>. Ostatné tyčinky (9x) sú naplnené lineárnym PFPE (Fomblin<sup>®</sup> PFPE Lubricant Y LVAC 06/6 od spoločnosti Solvay Plastics) [25].



**Obr. 30** Tyčinkový fantóm, plnený fomblinom a vodou – bočný pohľad

<sup>10</sup> Rýchla voda – roztok  $H_2O$  s krátkou  $T_2$  relaxačnou dobou. 1,5 litrový roztok je tvorený 1,5 l destilovanej vody, 1,87 gramu  $NiSO_4 \cdot 6H_2O$  (síran nikelnatý) a 3,92 g NaCl (kuchynská soľ)

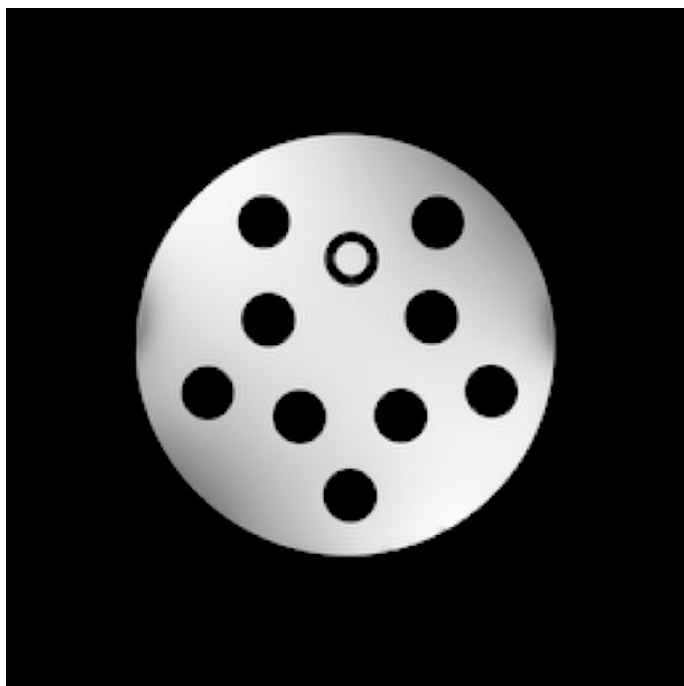


**Obr. 31** Tyčinkový fantóm, plnený fomblinom a vodou – pohľad z vrchu

Optimalizovanie parametrov, sme previedli na troch rôznych sekvenciách - FLAH, MSME a RARE. Pri všetkých troch sekvenciách sme použili rovnaké FOV (5 cm), rovnakú hrúbku vrstvy (6 mm) a maticu 256x256. Koncentrácia fluóru je v tejto zlúčenine tak veľká, že nebolo potrebné priemerovanie. U sekvencie RARE bol použitý nižší RARE faktor a to 2.

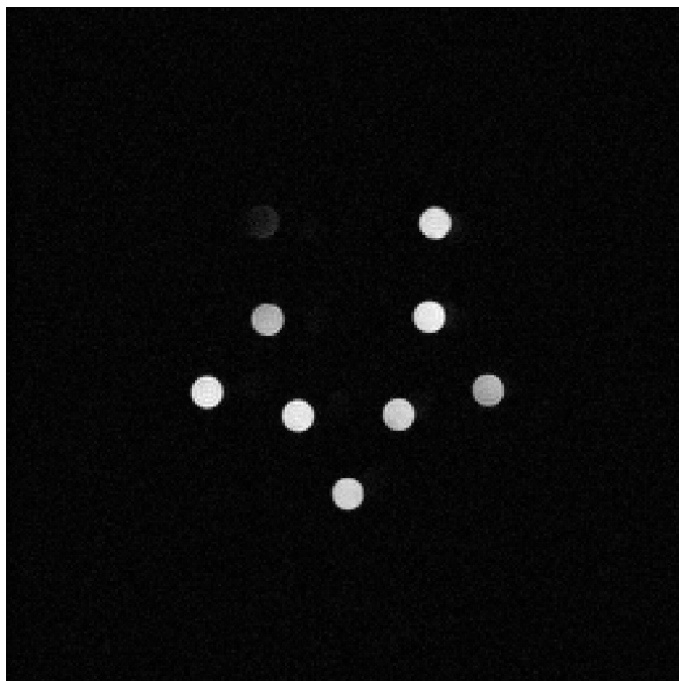
**Tabuľka 9** Optimalizované parametre pre jednotlivé sekvencie

Sekvencia	TR [ms]	TE [ms]	Tx0	Tx1	Zosílenie	Sklápací pulz		Refokusačný pulz		SNR
						Dĺžka [ms]	Šírka vrstvy [Hz]	Dĺžka [ms]	Šírka vrstvy [Hz]	
Flash	1500	5,4	9	7	161	15	3600	-	-	59,83
MSME	1000	23,9	9	7	144	12	450	7,6	450	35,56
RARE	2500	28	9	7	144	12	450	7,6	450	35,78

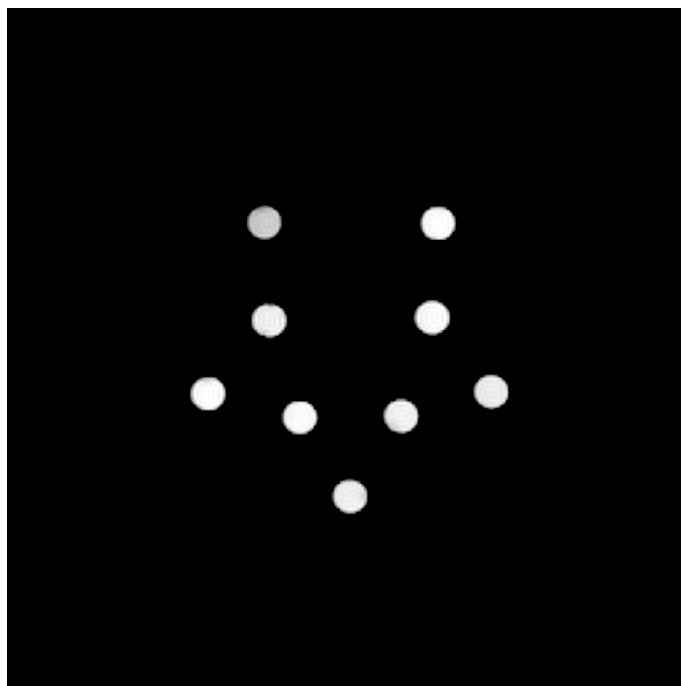


**Obr. 32** Vodíkový obraz zobrazený pomocou sekvencie Flash  
(zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)

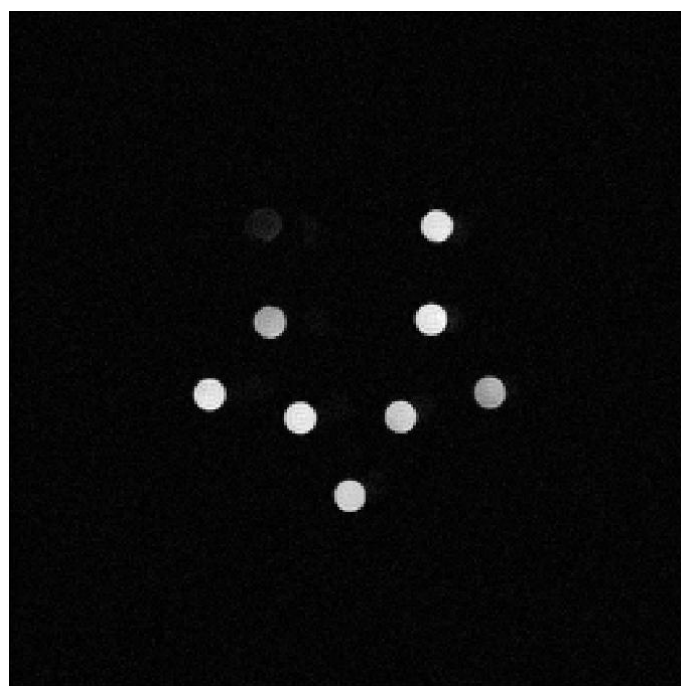
Následne uvádzame obrazy pre jednotlivé sekvencie a obrazy, kde je preložený vodíkový obraz s fluórovým. Prekladanie je robené priamo v programe ParaVision 5.1, ktorý túto možnosť ponúka.



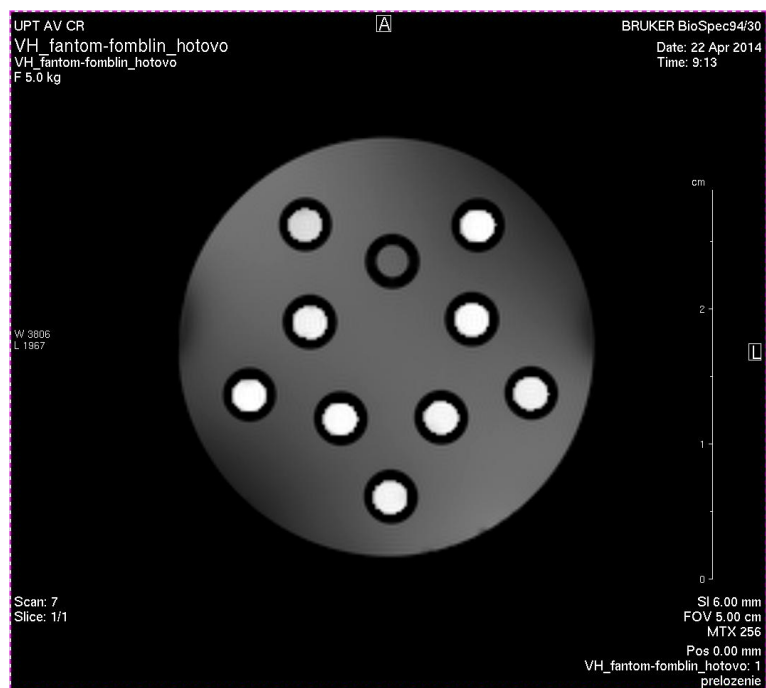
**Obr. 33** Obraz zobrazený pomocou sekvencie RARE  
(zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)



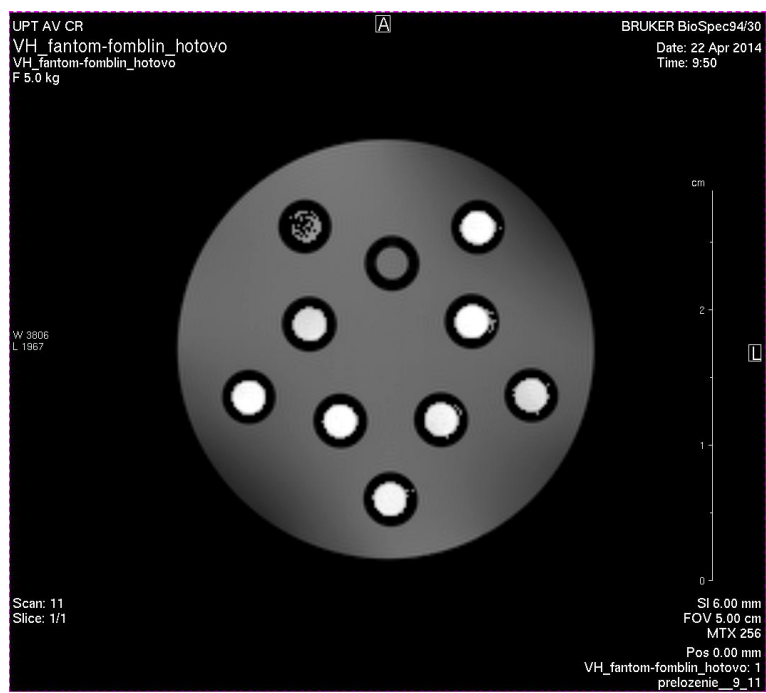
**Obr. 34** Obráz zobrazený pomocou sekvencie Flash  
(zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)



**Obr. 35** Obráz zobrazený pomocou sekvencie MSME  
(zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)

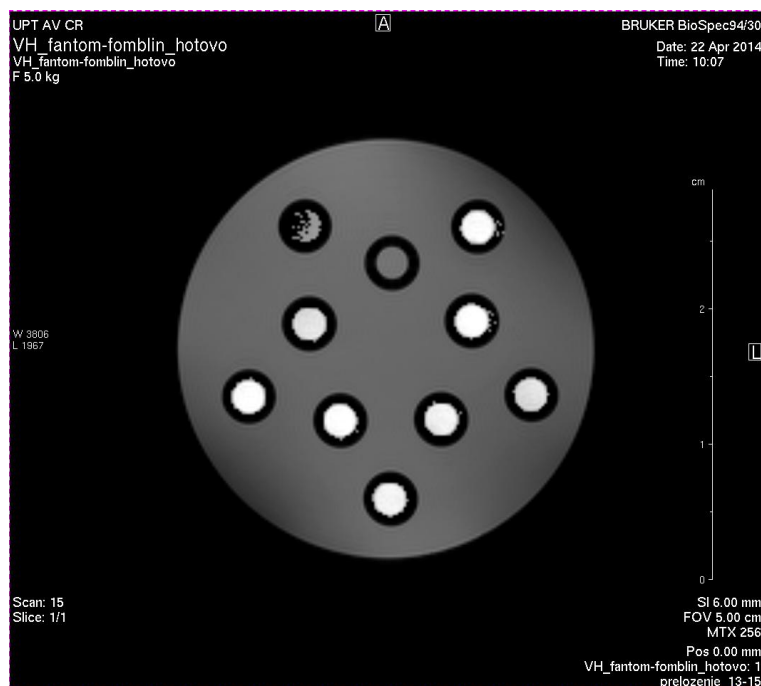


**Obr. 36** Preložený fluórový a vodíkový obraz zobrazený sekvenciou Flash  
(zobrazené v programe ParaVision 5.1)



**Obr. 37** Preložený fluórový a vodíkový obraz zobrazený sekvenciou MSME  
(zobrazené v programe ParaVision 5.1)

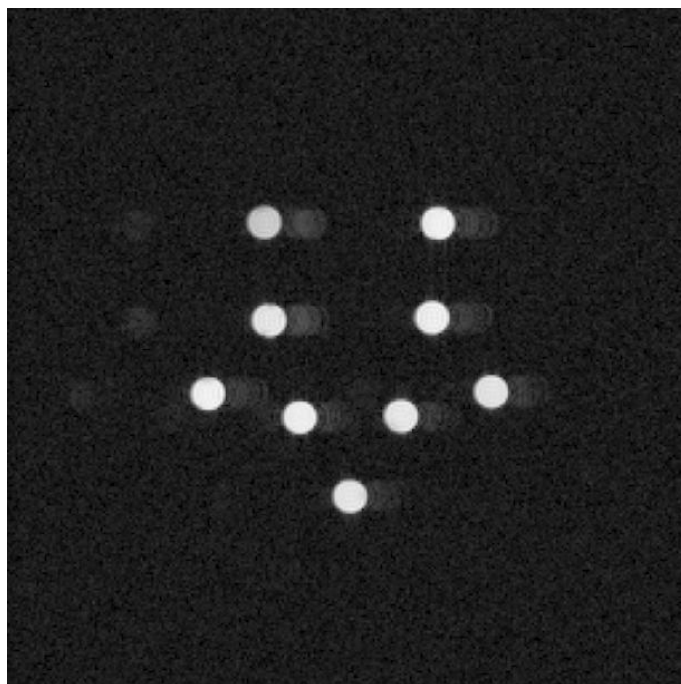




**Obr. 38** Preložený fluórový a vodíkový obraz zobrazený sekvenciou RARE  
(zobrazené v programe ParaVision 5.1)

Optimalizácia parametrov ani pre tento fantóm nebola bezproblémová. Zo zobrazením fluóru problémy neboli, keďže ako sme už vyššie písali, jeho koncentrácia vo fomblíne je vysoká. Jeho chemický vzorec je však zložitejší ako vzorce ostatných nami využívaných zlúčenín, čo je vidieť aj na spektre tejto zlúčeniny, ktoré je uvedené nižšie v podkapitole 7.3. Obraz zobrazený neoptimalizovanými parametrami obsahuje viacero odrazov, tzv. duchov. Títo duchovia sú tvorení chemickými posunmi, ktoré sú evidentné v spektre lineárneho PFPE. Dochádza tu k nepriamej spin-spinovej interakcii, ktorá spôsobuje štiepenie signálov a dochádza tu k multiplicité signálu. [26] Tým vznikajú posunuté odrazy, tzv. duchovia, ktorí sú viditeľní na Obr. 39.

Tomuto efektu sa nám podarilo viac či menej zabrániť zvýšením (RARE, MSME) a zmenšením (FLASH) dĺžky sklápacieho a refokusačného pulzu a zúžením (RARE, MSME) a rozšírením (FLASH) šírky pásma sklápacieho a refokusačného pulzu. Tým sa nám podarilo zväčšiť (RARE, MSME) a zmenšiť (FLASH) chemický posun natoľko, že sme u sekvencie RARE a MSME vytlačili duchov zo zobrazovaného pásma a v prípade sekvencie FLASH sme zmenšili chemický posun natoľko, že sa takmer všetci duchovia preklopili s hlavným signálom. Na Obr. 33, Obr. 35 sú ešte stále viditeľní nepatrní duchovia, ktorých nie sme schopní eliminovať ani pri ďalšom zväčšovaní dĺžky a šírky pásma sklápacieho a refokusačného uhla.



**Obr. 39** Obraz zobrazený neoptimalizovanými parametrami  
(zobrazené v programe MAREVISI, © IBD NRC a ÚPT AVČR)

## 7. Spektroskopické meranie využívaných zlúčenín

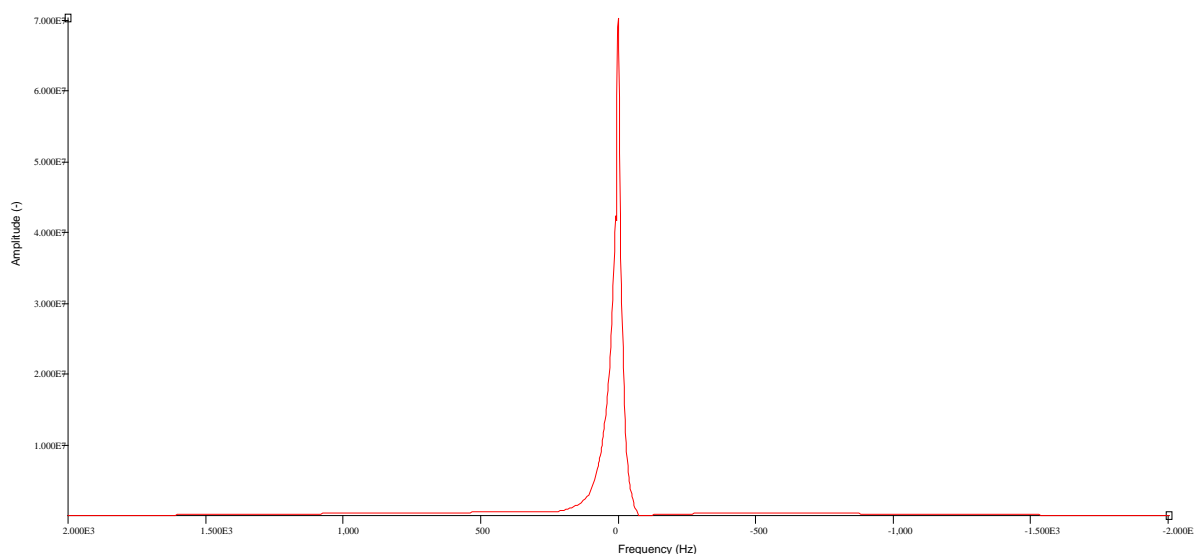
Ďalším bodom tejto práce bolo spektroskopické meranie fluórových zlúčenín využívaných v jednotlivých fantómoch. Princíp tohto merania je popísaný v podkapitole 2.4. U spektroskopického merania sme využívali sekvenciu STEAM  $1H^{11}$ , kde ide o jednoobjemovú spektroskopickú metódu, ktorá využíva tri za sebou idúce  $90^\circ$  RF pulzy.

Prvým krokom pri všetkých nami prevádzaných spektroskopických meraniach bolo naladenie cievky na celý objem fantómu. Druhým krokom bolo vybranie menšieho objemu, poprípade jednej eppendorfky či tyčinky. V nasledujúcich podkapitolách uvádzame jednotlivé obrazy  $^{19}F$  spektier aj spolu s objemami, s ktorých bolo spektrum zosnímané. Ďalej je v každej podkapitole uvedené aj vodíkové spektrum danej zlúčeniny.

### 7.1. Trifluóretanol – Bruker Biospec s.r.o. fantóm

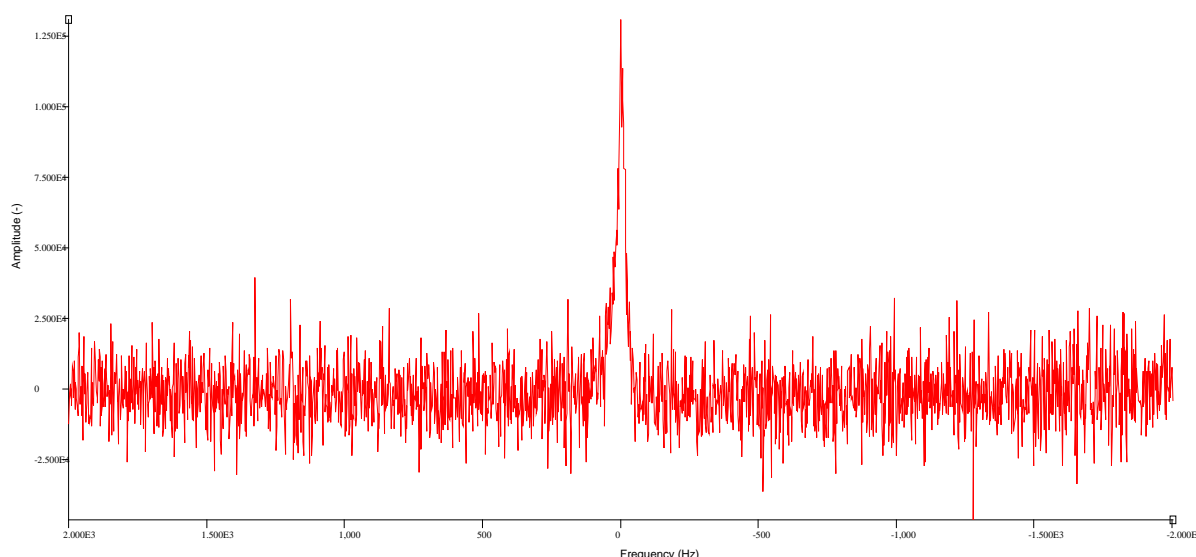
Prvým nami využívaným fantómom je fantóm obsahujúci trifluóretanol. Štruktúrny vzorec tejto zlúčeniny je  $CF_3-CH_2-OH$ .

Larmorova frekvencia vodíka bola zaokrúhlene 400 MHz a pre fluór 376,6523481 MHz.



Obr. 40 Vodíkové spektrum

<sup>11</sup> 1H nám v názve určuje, že táto sekvencia je primárne nastavená na zobrazovanie protónov  $^1H$



**Obr. 41** Fluórové spektrum

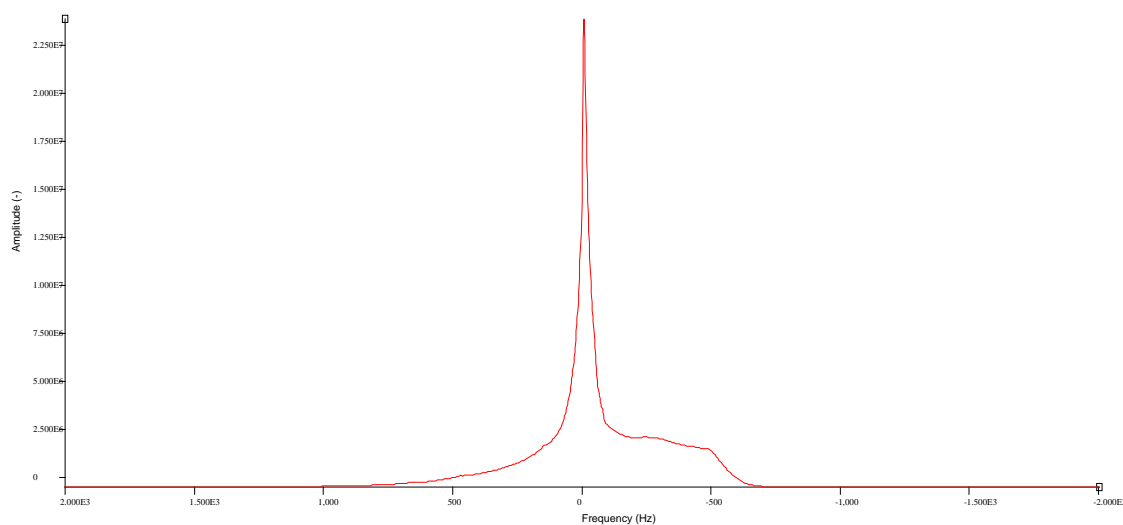
Vodíkové spektrum je čisté a fluórové je viac zašumené, čo je spôsobené nižšou koncentráciou fluóru. No je tu evidentný jeden hlavný pík, ktorý predstavuje intenzitu signálu fluóru.

## 7.2. Kyselina trifluóroctová

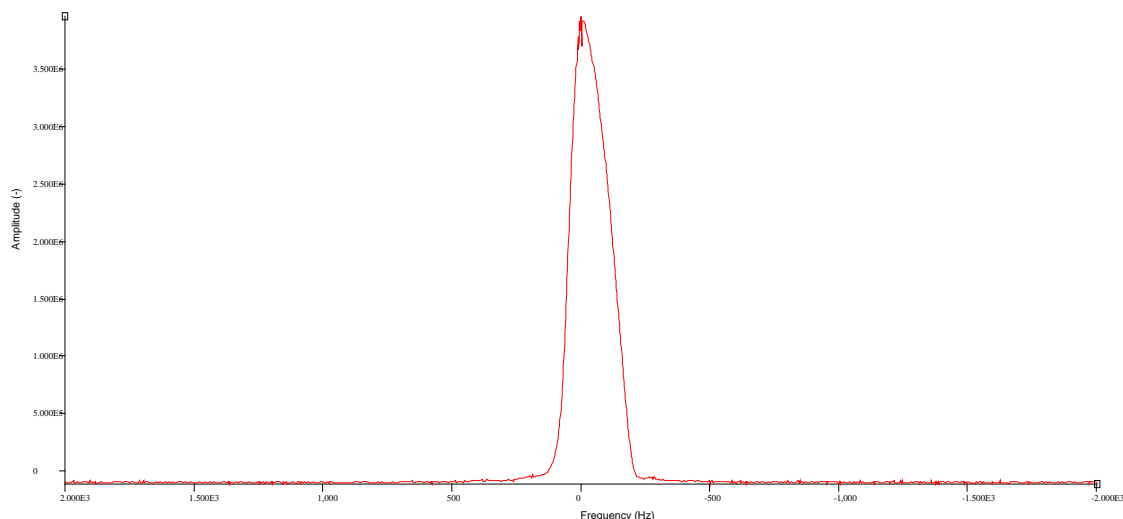
Druhý využívaný fantóm bol plnený rôznymi koncentraciami kyseliny trifluóroctovej. Jej chemický vzorec je  $\text{CF}_3\text{COOH}$ . Spektrum tohto fantómu bude podobné ako spektrum predchádzajúcej zlúčeniny.

Larmorova frekvencia vodíka bola zaokrúhlene 400 MHz a pre fluór 376,653302 MHz.

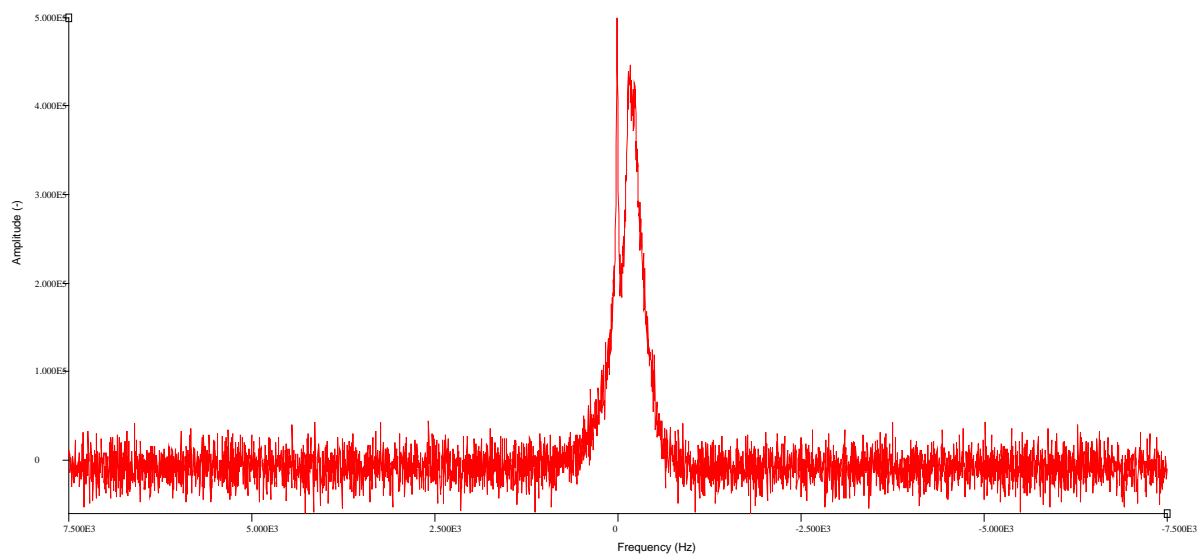
Spektrum sme robili najskôr s celého objemu (28x28x28 mm) a neskôr s každej eppendorfky samostatne (6x6x6 mm).



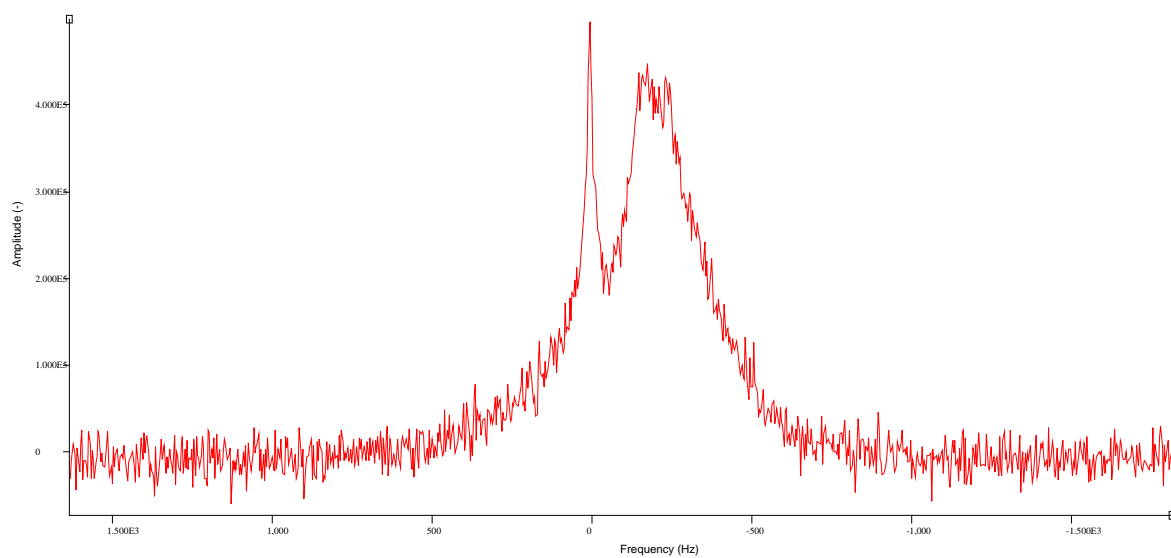
**Obr. 42** Vodíkové spektrum z celého objemu 28x28x28 mm



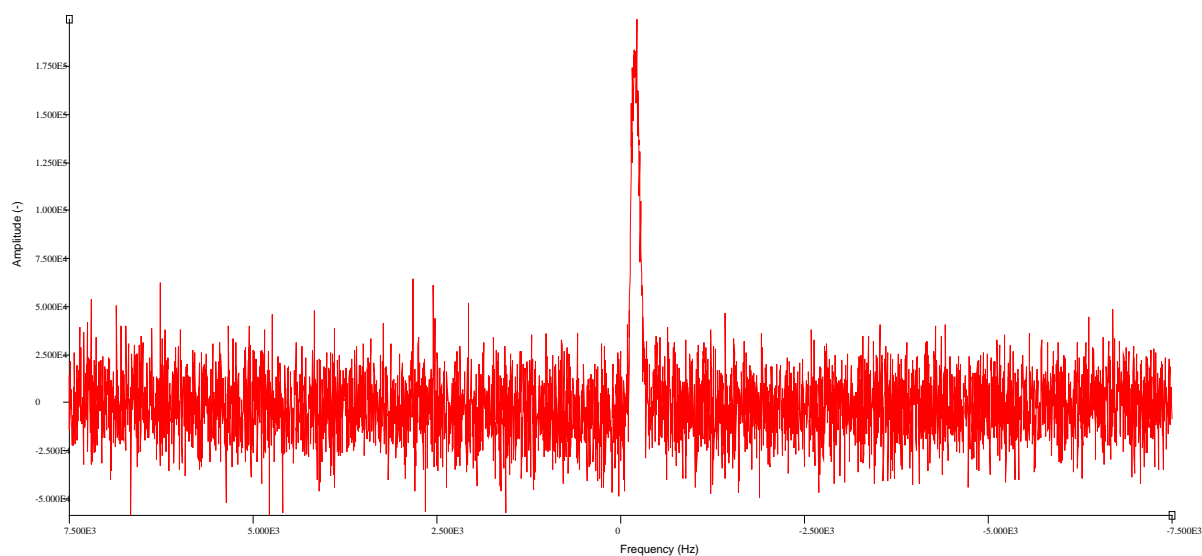
**Obr. 43** Vodíkové spektrum z jednej eppendorfkky 6x6x6 mm



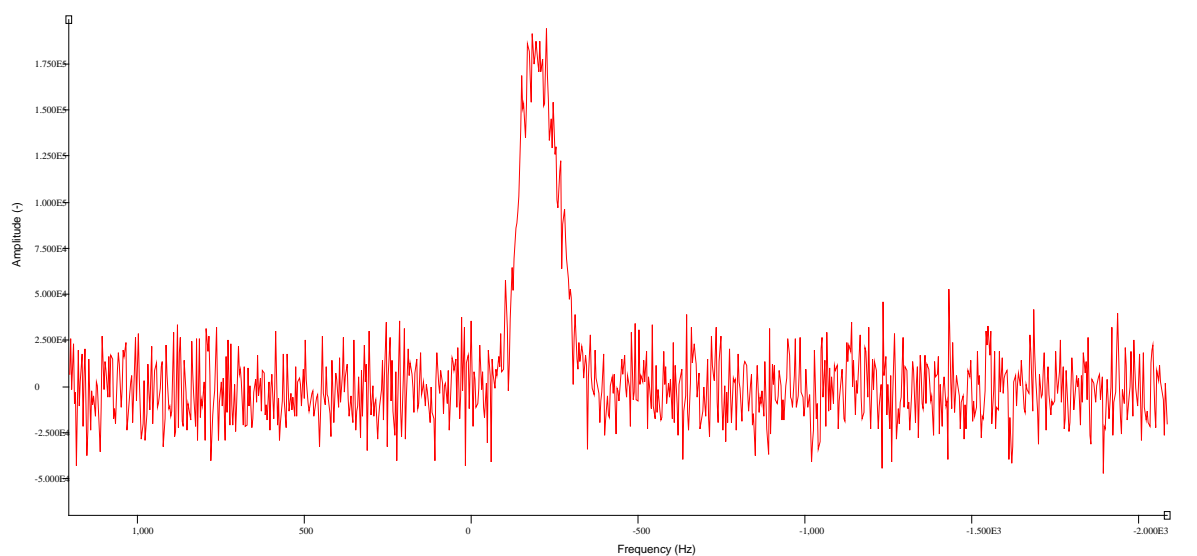
**Obr. 44** Fluórové spektrum z celého objemu 28x28x28 mm



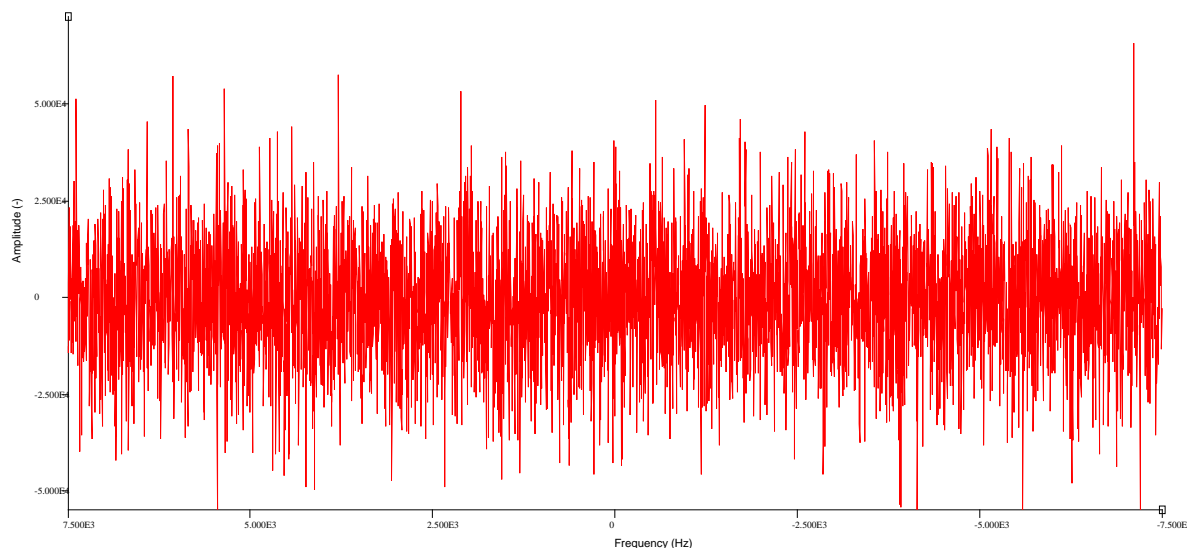
**Obr. 45** Fluórové spektrum z celého objemu 28x28x28 mm - približené



**Obr. 46** Fluórové spektrum z celého objemu 6x6x6 mm, pre koncentrácii 1000 mM

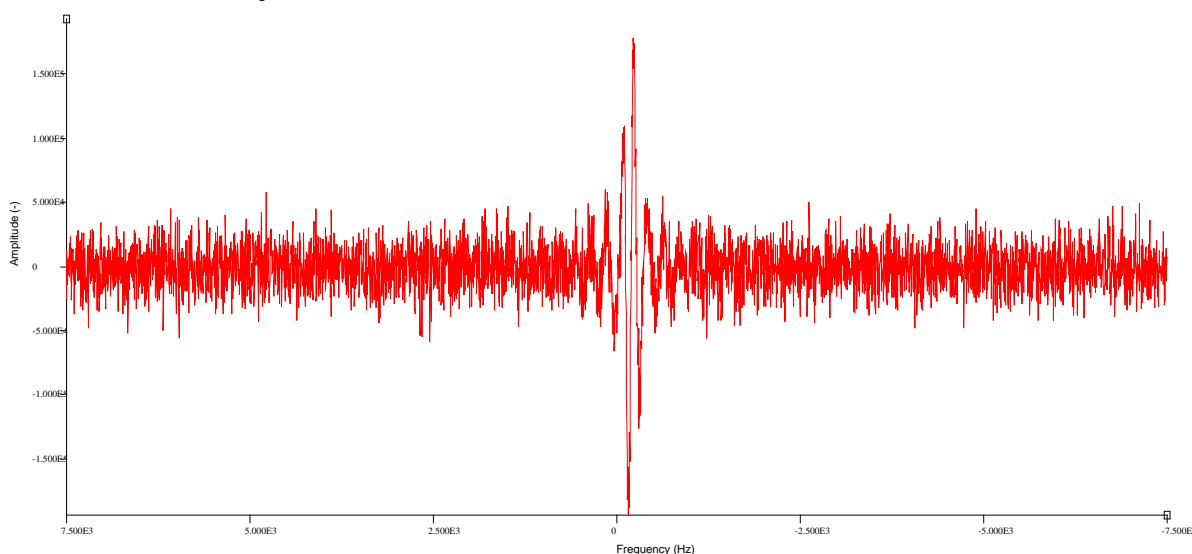


**Obr. 47** Fluórové spektrum z celého objemu 6x6x6 mm, pre koncentrácii 1000 mM - približené

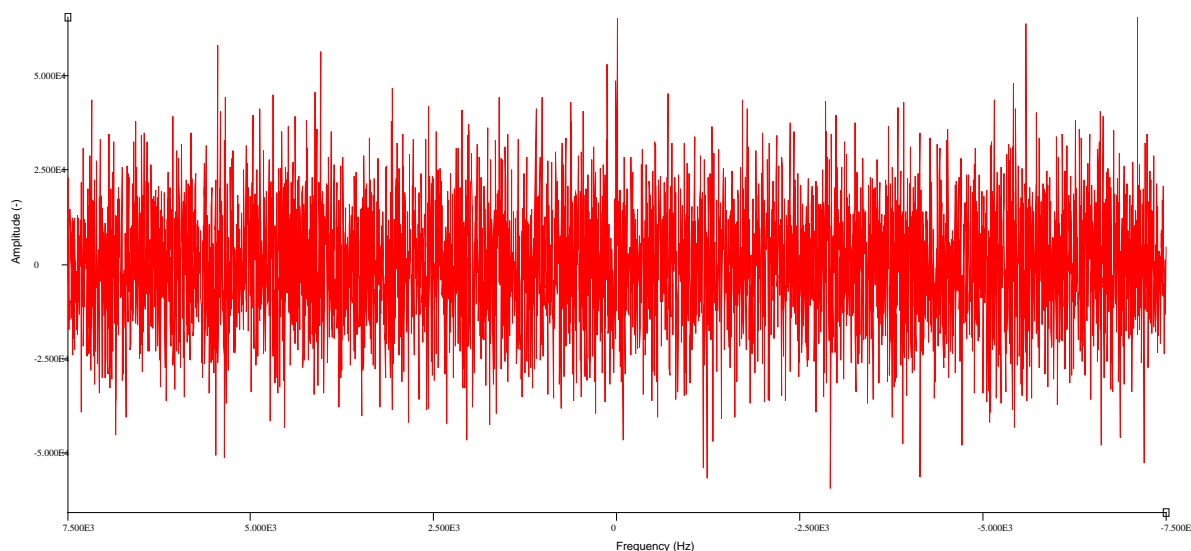


**Obr. 48** Fluórové spektrum z celého objemu 6x6x6 mm, pre ostatné koncentrácie

Keďže nie je v celom objeme (28x28x28 mm) homogénne prostredie ani nami zobrazované spektrum nie je také čisté, ako v predchádzajúcom prípade. Fluórové spektrum tohto fantómu je viac rozčlenené, čo môže byť už vyššie spomínanou spin-spinovou interakciou, a štiepením signálu alebo nehomogenitou rozloženia signálu v objeme. Spektrum sme následne robili z menších objemov (kociek), ktoré zahŕňajú len jednu eppendorfku. Veľkosť objemu je v tomto prípade 6x6x6 mm. Spektrum, v ktorom je evidentný signál z fluóru bolo možné zosnímať iba s eppendorfky s najväčšou koncentráciou. Fluórový signál v ostatných eppendorfkách bol natoľko malý, že sme neboli schopní zosnímať spektrum s výraznejším píkcom. Pre ukážku uvádzame aj FID signál zosnímaný s eppendorfky s nižšou koncentráciou (100 mM) (viz. Obr. 50) a najvyššou koncentráciou (1000 mM) (viz. Obr. 49) kyseliny trifluóroctovej.



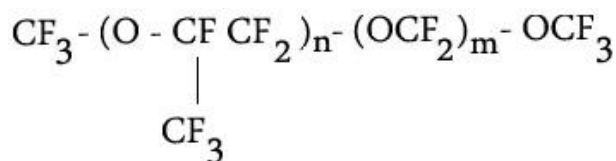
**Obr. 49** FID signál kyseliny trifluóroctovej s koncentráciou 1000 mM



**Obr. 50** FID signál kyseliny trifluóroctovej s koncentráciou 100 mM

### 7.3. Lineárne PFPE – Fomblin

Je to zlúčenina, ktorá je svojim štruktúrnym vzorcom najzložitejšia. Štruktúrny vzorec udávaný výrobcom je zobrazený na Obr. 51.



**Obr. 51** Štruktúrny vzorec lineárneho PFPE udávaný výrobcom [27]

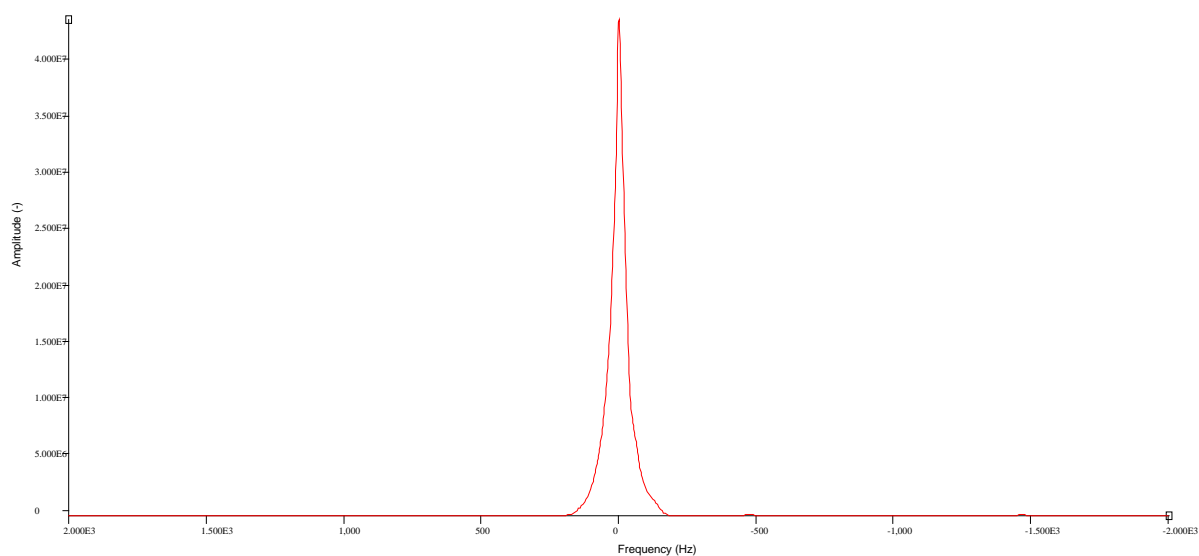
Výrobca udáva, že  $n+m=8-45$  a  $n/m=20-1$ . K úplnému štruktúrnemu vzorcu, čiže hodnote  $n$  a  $m$  sme sa nedopátrali, a preto bolo nutné, najmä kvôli určeniu koncentrácie fluóru v tejto zlúčenine, dopočítať tieto hodnoty. Podľa uvedenej molekulovej hmotnosti sme dopočítali, že  $n=12$  a  $m=4$ .

Je vidieť niekoľko ekvivalentných fluórových atómov v tomto vzorci, čo nám bude spôsobovať štiepenie signálu.

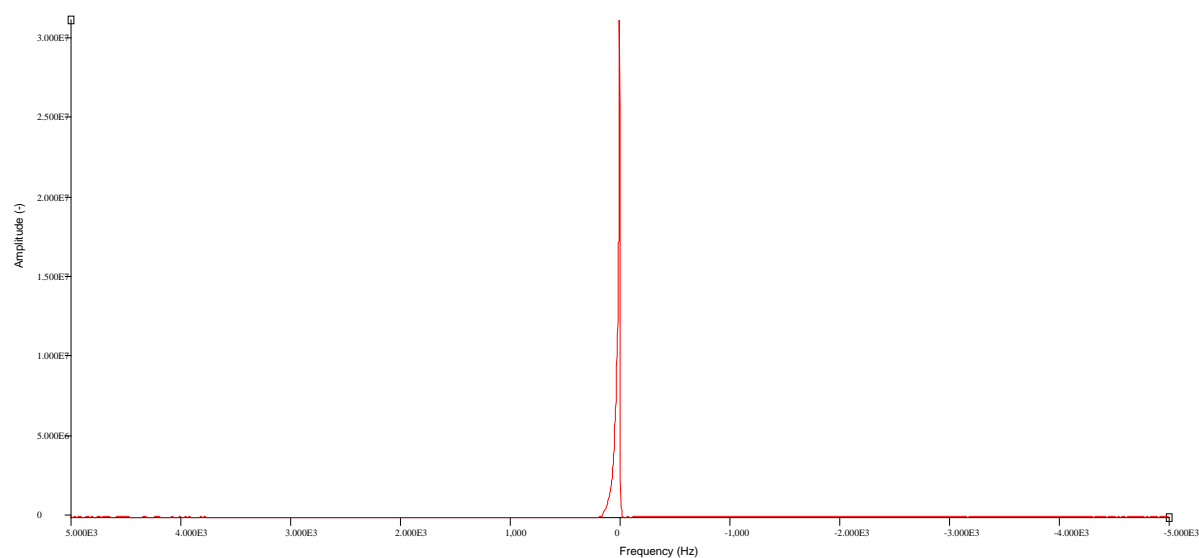
Larmorova frekvencia vodíka bola zaokrúhlene 400 MHz a pre fluór 376,6502898 MHz.

Ako u ostatných zlúčenín, aj tu sme robili prvotne spektrum z väčšieho objemu (31x31x31 mm), ďalšie spektrá boli z jednotlivých tyčiniek, kde sme zvolili objem 2x2x30 mm.

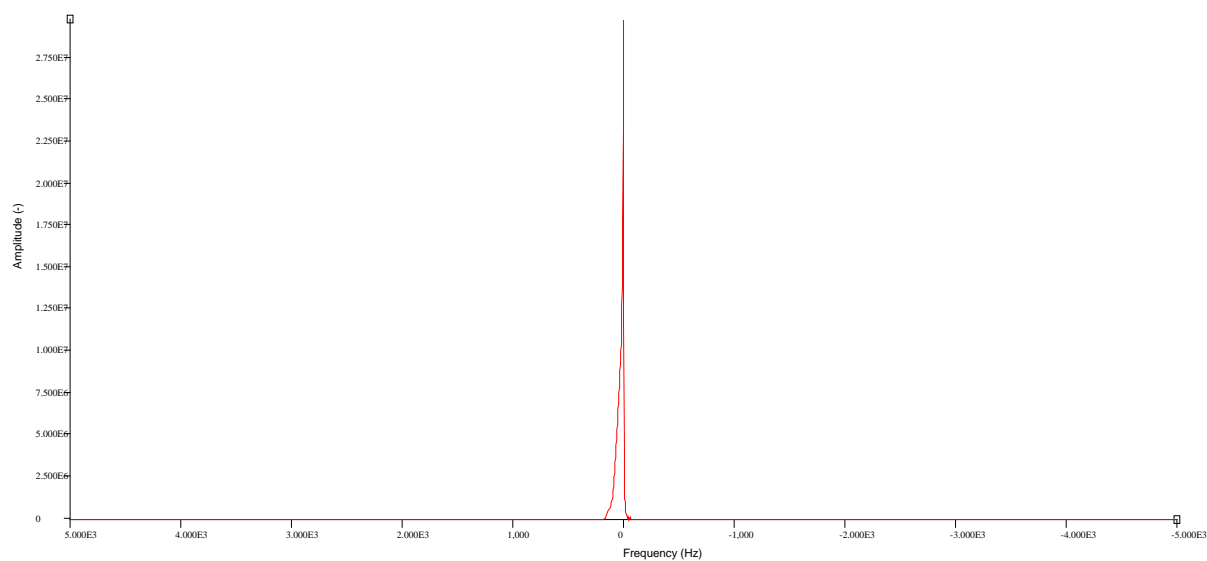




**Obr. 52** Vodíkové spektrum z celého objemu 31x31x31 mm

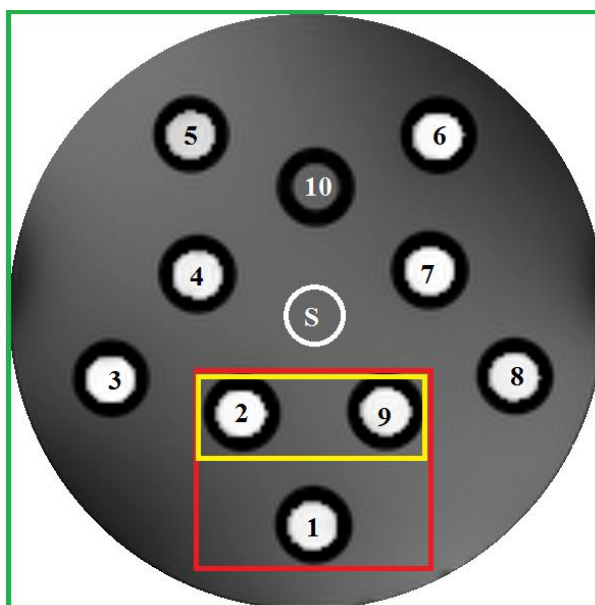


**Obr. 53** Vodíkové spektrum z objemu 2x2x30 mm (tyčinka naplnená rýchlou vodou)

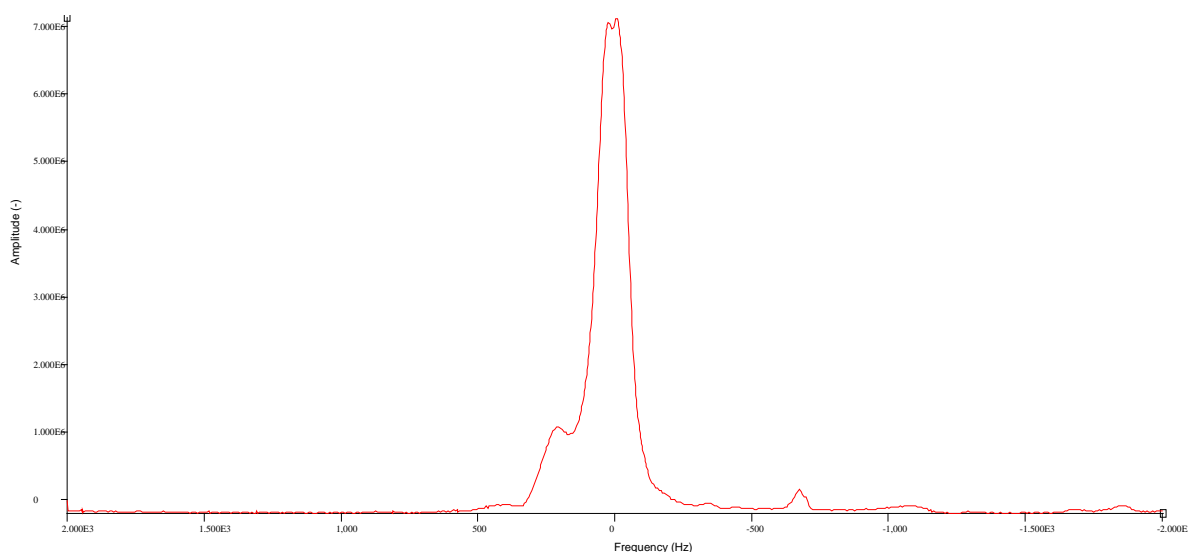


**Obr. 54** Vodíkové spektrum z objemu 2x2x30 mm (S –stred viz. Obr. 55)

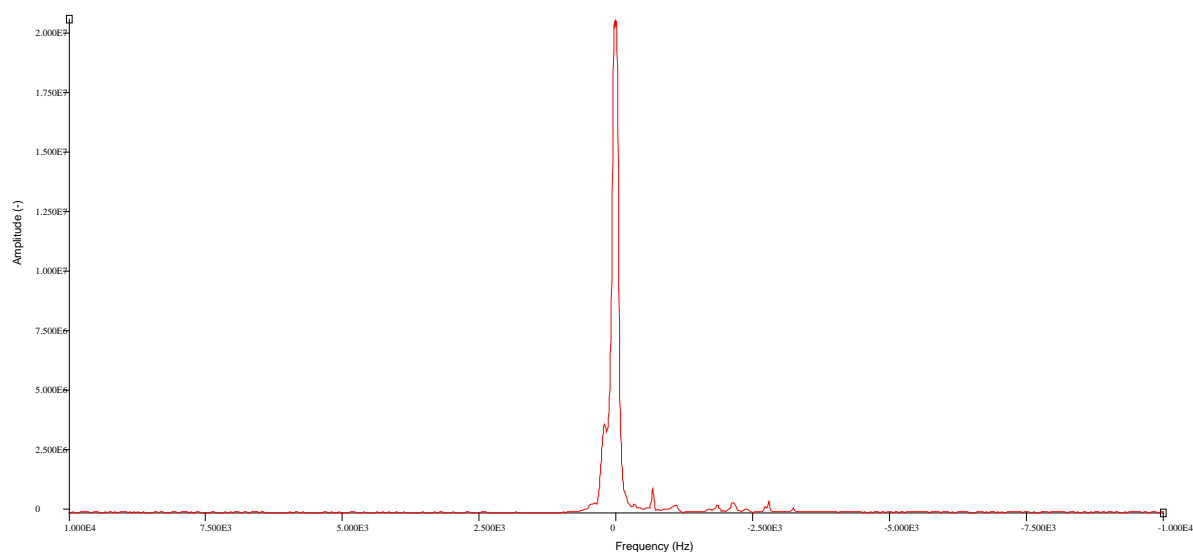
Pri meraní fluórových spektier sme si zvolili, viacero objemov. Prvým bol objem celého fantómu (31x31x31 mm), druhým objem zahŕňajúci tri tyčinky (12x12x12 mm), ďalším objem opisujúci kváder zahŕňajúci dve tyčinky (5x12x12 mm) a objem zahrňujúci jednu tyčinku (2x2x30 mm). Posledný objem nám zahŕňa kocku s objemom 2x2x2 mm, ktorá je vložená do jednej z tyčiniek (jednotlivé rozloženie viz. Obr. 55). Keďže je chemický vzorec tejto zlúčeniny dosť komplikovaný, bolo po prvom zmeraní spektra nutné prenastavenie frekvenčného pásma z pôvodných 4006,41 Hz (viz. Obr. 56) na 20000 Hz (viz. Obr. 57) (neskôr sme ho upravili na 15000 Hz), čím sme zabezpečili dostatočne široké frekvenčné pásmo a možnosť zobrazenia všetkých fluórových píkov.



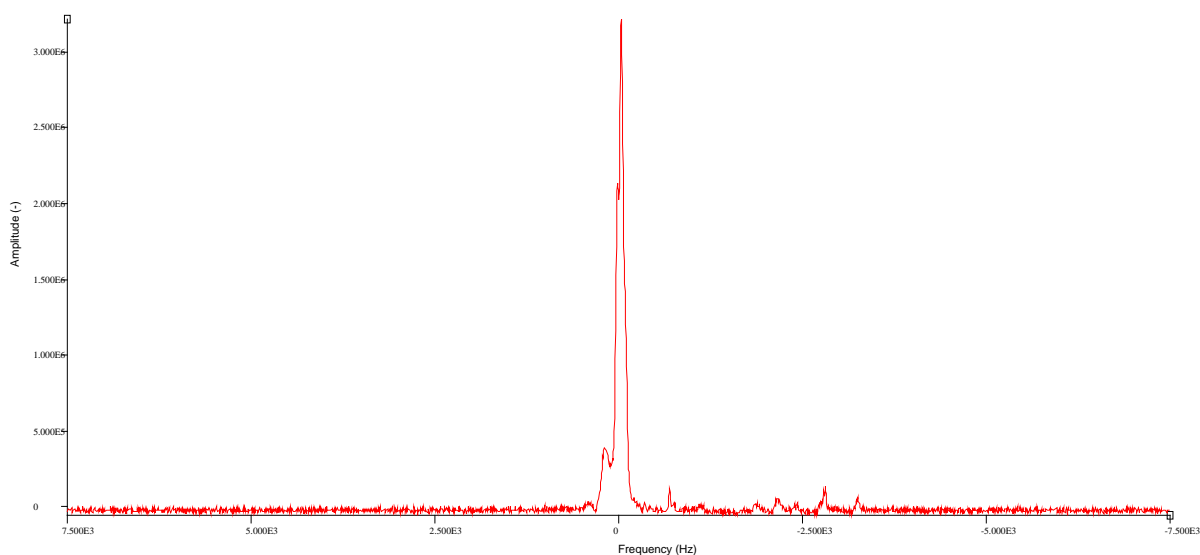
**Obr. 55** Rozloženie objemov, z ktorých boli snímané spektrá (zelený - 31x31x31 mm, červený – 12x12x12 mm, žltý – 5x12x12 mm) a jednotlivé poradie snímaných spektier z tyčiniek, S – stred (vodíkové spektrum)



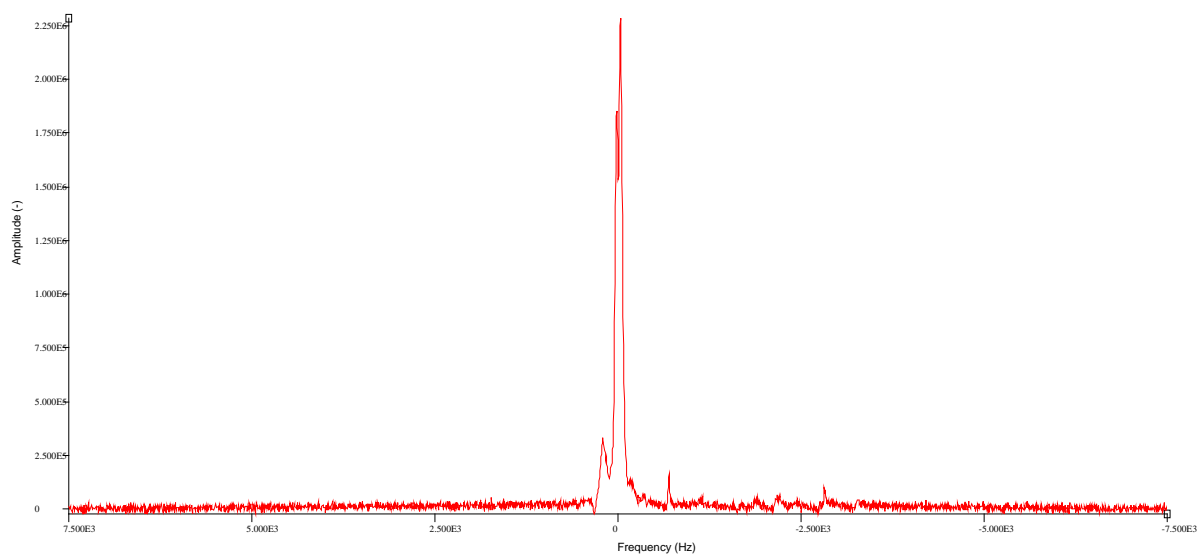
**Obr. 56** Fluórové spektrum z celého objemu 31x31x31 mm (frekvenčné pásmo 4006,41 Hz)



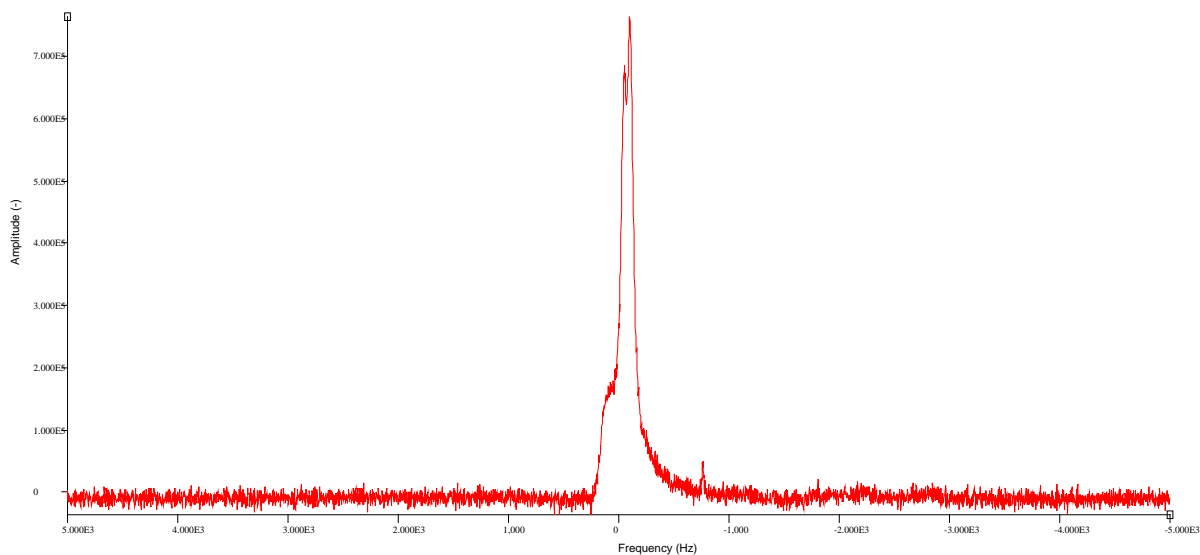
**Obr. 57** Fluórové spektrum z celého objemu 31x31x31 mm (frekvenčné pásmo 20000 Hz)



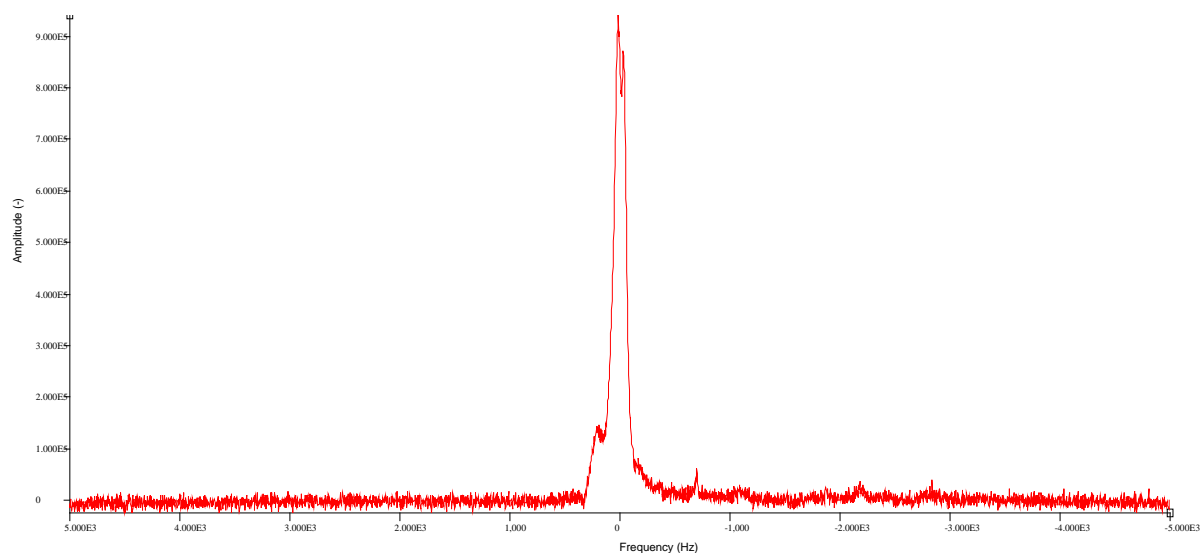
**Obr. 58** Fluórové spektrum z objemu 12x12x12 mm (frekvenčné pásmo 15000 Hz)



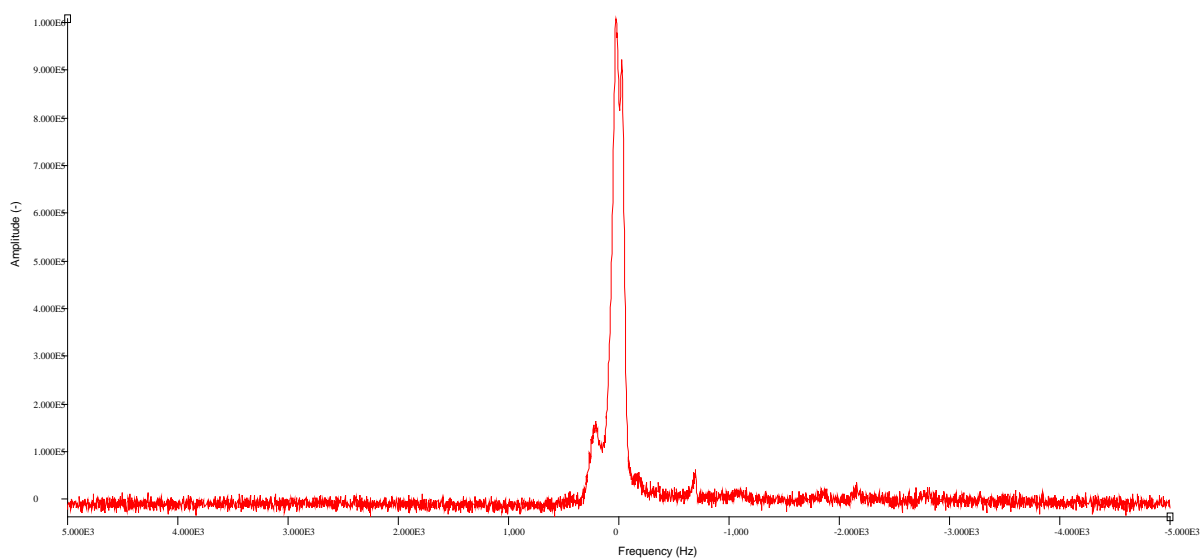
**Obr. 59** Fluórové spektrum z objemu 5x12x12 mm



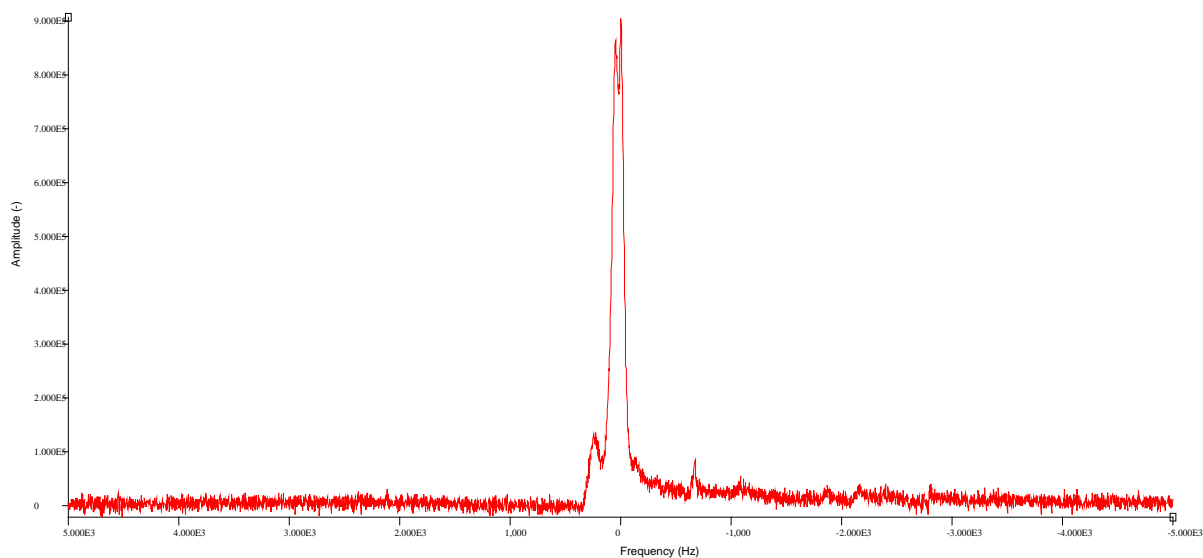
**Obr. 60** Fluórové spektrum zosnímané s 1. tyčinky



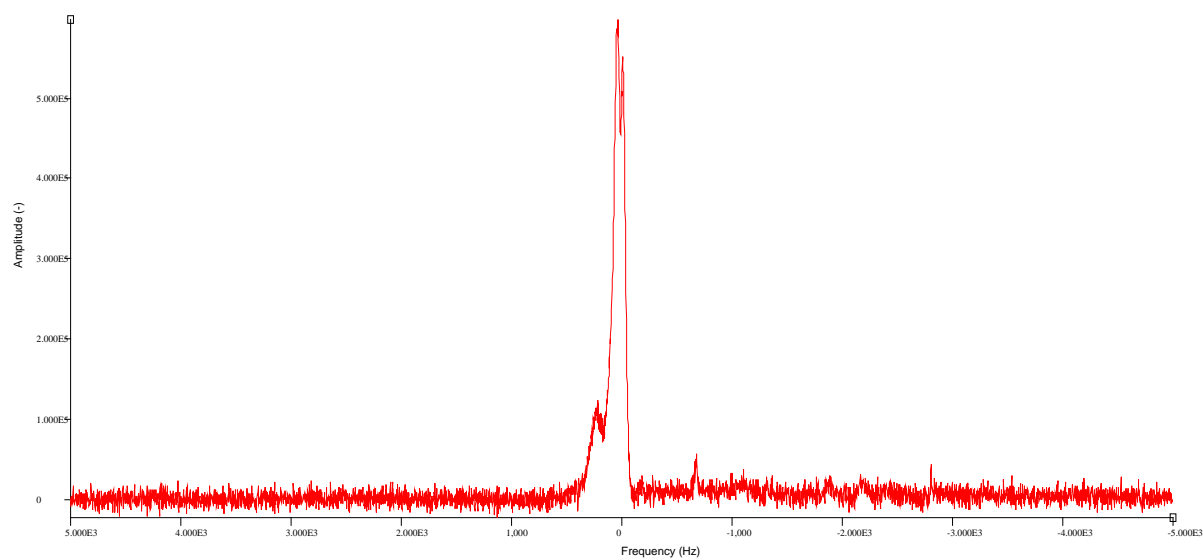
**Obr. 61** Fluórové spektrum zosnímané s 2. tyčinky



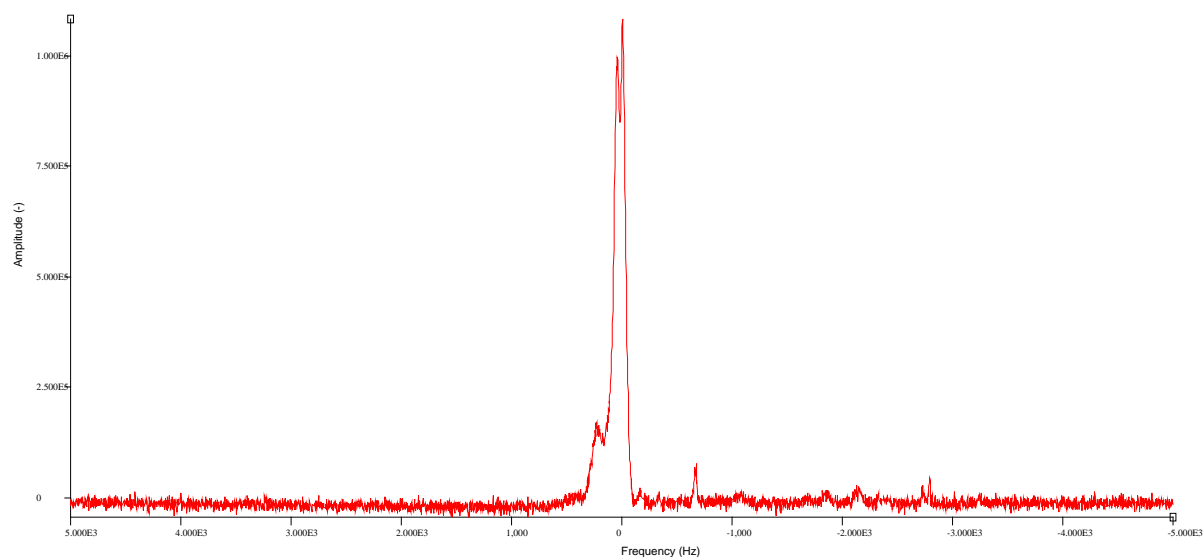
**Obr. 62** Fluórové spektrum zosnímané s 3. tyčinky



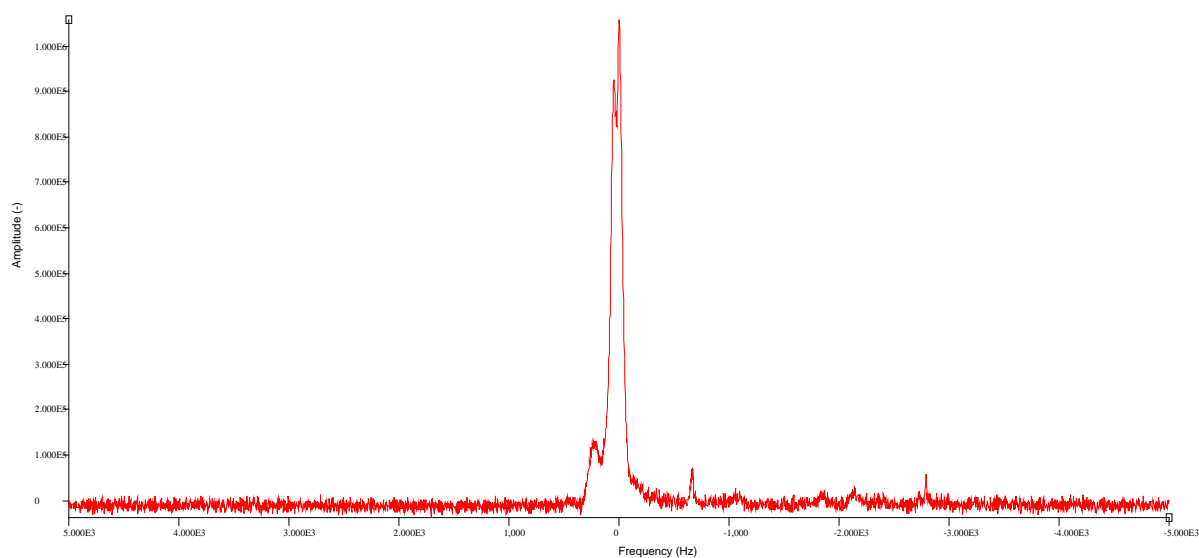
**Obr. 63** Fluórové spektrum zosnímané s 4. tyčinky



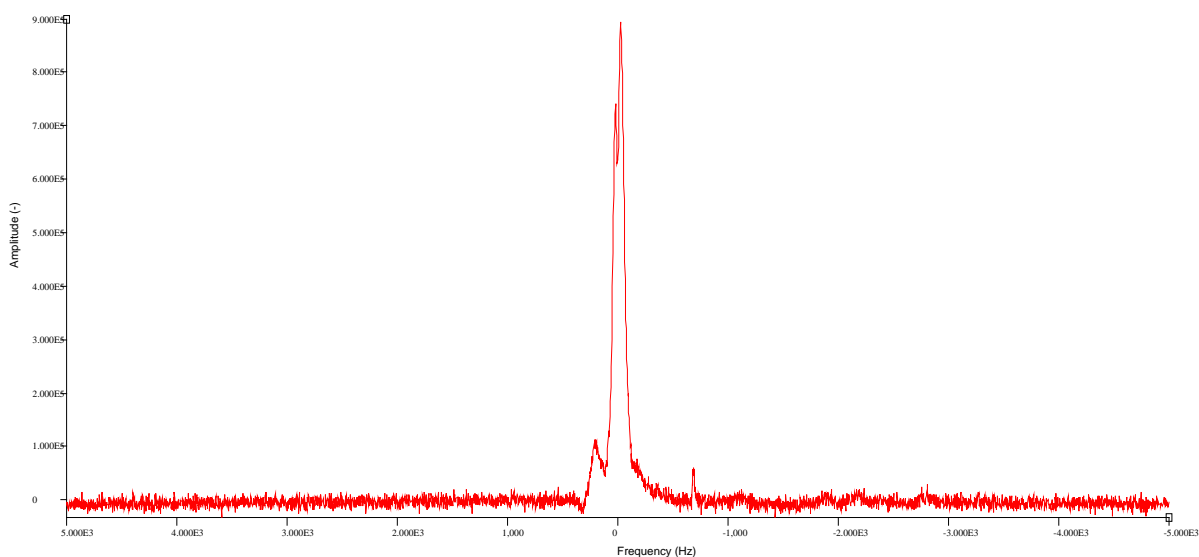
**Obr. 64** Fluórové spektrum zosnímané s 5. tyčinky



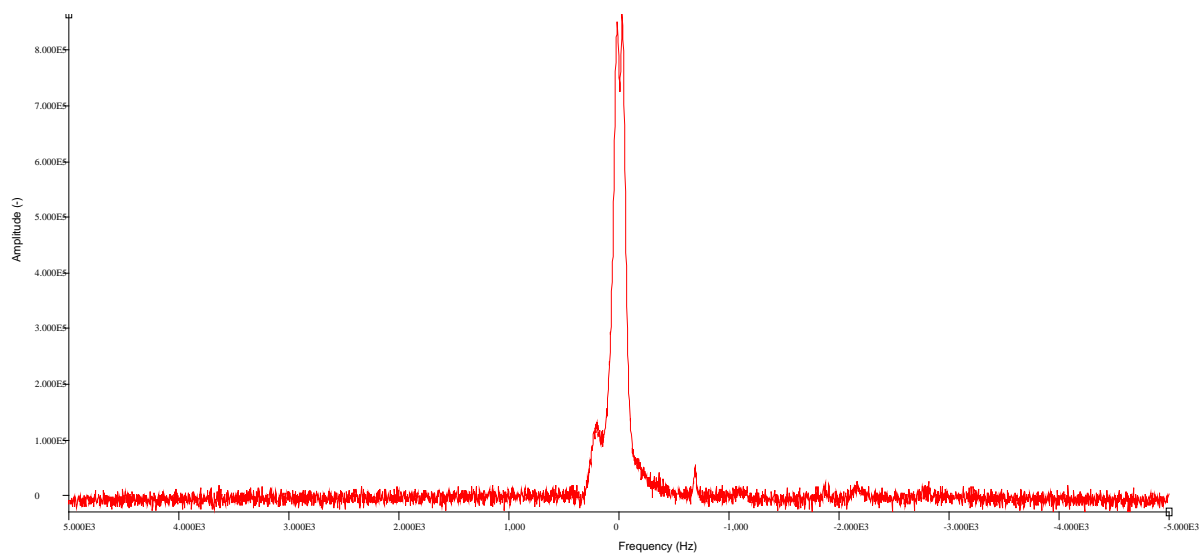
**Obr. 65** Fluórové spektrum zosnímané s 6. tyčinky



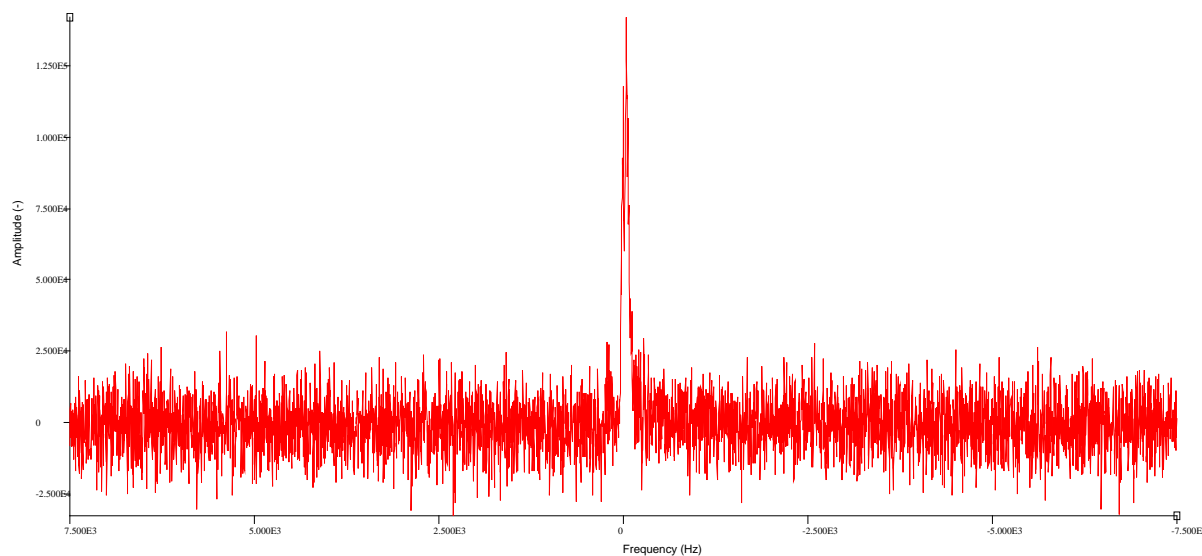
**Obr. 66** Fluórové spektrum zosnímané s 7. tyčinky



**Obr. 67** Fluórové spektrum zosnímané s 8. tyčinky



**Obr. 68** Fluórové spektrum zosnímané s 9. tyčinky



**Obr. 69** Fluórové spektrum zosnímané z objemu 2x2x2 z 1. tyčinky

Jednotlivé spektrá zosnímané zo všetkých tyčiniek sú si veľmi podobné, čo nás utvrdzuje v stálosti signálu tejto zlúčeniny a v možnosti jej ďalšieho využívania.

## 8. Aplikovateľnosť využívaných zlúčenín v animálnych modeloch a porovnanie citlivosti s $^1\text{H}$ obrazmi

Aby sme mohli využívať nejaké zlúčeniny ako kontrastné látky či v animálnych alebo v humánnych modeloch, musíme zabezpečiť najmä ich netoxickosť.

Trifluóretanol je zlúčenina využitá vo fantóme Bruker Biospec s.r.o.. Tento alkohol je viac ako 1000-krát kyslejší ako etanol [30]. Je to horľavá kvapalina, ktorá pôsobí toxicky pri požití i vdýchnutí. Taktiež je škodlivá pri kontakte s pokožkou a očami. Pri vnútornom požití a dlhšom pôsobení môže poškodiť aj vnútorné orgány. [29] Vysoká toxicita tejto zlúčeniny nám ju neumožňuje využívať pri animálnych modeloch.

Kyselina trifluóroctová je taktiež nevyužiteľná pri animálnych modeloch, keďže jej kyslosť je niekoľkokrát vyššia ako kyslosť kyseliny octovej. Využíva sa pre sekvenčnú analýzu bielkovín, spôsobuje ťažké poleptanie kože a očí, a taktiež je aj škodlivá pri vdychovaní. Tieto vlastnosti nám neumožňujú využívať túto zlúčeninu ako kontrastnú látku pri animálnych modeloch. [28]

Lineárne PFPE je lubrikant (mazivo) s jedinečnými vlastnosťami. Táto zlúčenina je tepelne stabilná, chemicky a biologicky je inertná (viz. podkapitola 3.2). Je využívaná v potravinárstve, čo nám zaručuje jej netoxicitu pre ľudský organizmus. Lineárne PFPE môžeme preto využiť aj pri animálnych modeloch, ako kontrastnú látku. [31] Keďže však nie je riediteľný vodou, vytvárajú sa z neho nanočastice, ktoré sú následne balené do lipidových monovrstiev.

V ústave prístrojovej techniky sa lineárne PFPE využíva na konzervovanie biologických vzoriek.

Minimálna merateľná koncentrácia závisí na priestorovom rozlíšení a ďalších parametroch merania. Taktiež je daná aj časovým limitom merania. Praxou je dokázané, že koncentrácia vodíka pod 1 mM/l nie je zobraziteľná. Najnižšia nami zobrazená fluórová koncentrácia bola 29,4 mM/l. Vo vlastnostiach fluóru (viz. 3.1) je napísané, že citlivosť  $^{19}\text{F}$  MRI je 83% voči  $^1\text{H}$  MRI. Podľa obrazov, ktoré sa nám podarilo nasnívať vieme, že nami zobrazená koncentrácia nie je najnižšia zobraziteľná, čo nám potvrdzuje vyššie popísanú teóriu.



## 9. Záver

V úvode práce som sa zaoberala princípom samotného javu magnetickej rezonancie a jeho vznikom. Vysvetlila som dôležité pojmy a najviac využívané sekvencie v MRI. Následne som sa zaoberala  $^{19}\text{F}$  MRI. Zaujímala som sa o jeho vlastnosťami, kontrastné látky a využitie. Vlastnosti  $^{19}\text{F}$  MRI sú veľmi podobné vlastnostiam  $^1\text{H}$  MRI. Je tu len jeden a to veľmi dôležitý rozdiel. Atómy  $^{19}\text{F}$  nemajú pozadie, a preto sú vhodné na detekciu nami značených látok, čo považujem za najväčší prínos  $^{19}\text{F}$  do MRI. Na preložených obrazoch (ktoré boli zosnímané s rovnakým FOV a veľkosťou vrstvy) môžeme vidieť ako jasne sa dá zlúčenina fluóru odlišiť od tej vodíkovej, bez komplikovanejších úprav. Koregistráciu týchto obrazov bolo možné prevádzkať počas meraní v samotnom ParaVision 5.1., čo prácu veľmi uľahčuje.

Popísala som netoxické zlúčeniny obsahujúce  $^{19}\text{F}$ , ktoré by bolo možné v  $^{19}\text{F}$  MRI využívať ako kontrastné látky, napr. na značenie kmeňových buniek, na značenie pro-liečiv, ale taktiež na značenie buniek v nádorovej oxymetrii. Popísala som taktiež ich doterajšie využitie v predklinickom výskume.

Ďalej som sa zaoberala návrhom dynamického fantómu pre  $^{19}\text{F}$  MRI oxymetriu, ktorý bol veľmi podrobne spracovaný v literatúre od S.H. Beate a Y. De Deene. [13] Jeho realizáciou som sa bohužiaľ pre jeho náročnosť nemohla zaoberať. Problém by nastal pri plnení dialyzačného filtra želatínou s kvasinkami. Nebola by som schopná naplniť tento filter želatínou bez väčších či menších bubliniek, ktoré by mi mohli robiť problémy pri zobrazovaní, keďže rozloženie PFC by nebolo také ako v tkanivách.

Následne som optimalizovala vytipované metódy zobrazovania  $^{19}\text{F}$  na predklinickom MR systéme Bruker Biospec 94/30 v ÚPT s ohľadom na dostupnú RF cievku a fantóm poskytnutý výrobcom Bruker Biospec s.r.o.. Optimalizovala som parametre pre dve sekvencie RARE a MSME. Jednotlivé parametre sú uvedené v podkapitole 6.1.

Ďalším krokom bolo vytvorenie si vlastných fantómov za použitia dostupných zlúčenín. Využila som zlúčeninu kyseliny trifluóroctovej a lineárne PFPE (fomblin). Kyselinu trifluóroctovú som využila na testovanie citlivosti detekcie danej cievky. Jednotlivé parametre a výsledky sú v podkapitole 6.2. Jedinou zlúčeninou, ktorá by sa dala využiť aj pri animálnych modeloch je PFPE (viz. kapitola 8). Jej testovanie citlivosti však nebolo možné, keďže som mala k dispozícii voľne predajnú lineárnu formu a nie formu nanočastíc. Lineárna forma PFPE je neriediteľná vodou a ani žiadnymi inými bežne dostupnými riedidlami.

V poslednej časti som prevádzala spektroskopické meranie na jednotlivých fantómoch, pomocou ktorého som bola schopná eliminovať duchov v obrazoch s lineárnym PFPE, ktorí boli tvorený tým, že jednotlivé časti PFPE (teda každý fluór) boli vybudené inou Larmorovou frekvenciou. Pomocou zväčšenia (RARE a MSME)/zmenšenia (FLASH) dĺžky a zúženia (RARE a MSME)/rozšírenia (FLASH) šírky sklápacieho a refokusačného pulzu som zväčšila (RARE a MSME)/zmenšila (FLASH) chemický posun natoľko, že som vytlačila (RARE a MSME) duchov mimo nami zobrazovaného pásma, alebo prekryla (Flash) s hlavným

obrazom. Nepodarilo sa mi však eliminovať všetkých duchov, čo bol problém, s ktorým som si úplne neporadila.

Ďalší problém nastal v zobrazovaní rôznych koncentrácií kys. trifluóroctovej, kde eppendorfka s najväčšou koncentráciou, a teda aj najväčším signálom prevyšovala svoju intenzitou ostatné eppendorfky a teda ich nebolo možné súčasne zobrazovať v jednej lineárnej intenzitnej stupnici. Tento problém som vyriešila vyňatím eppendorfky s najväčšou koncentráciou (viz. 6.2).

Posledný a nevyriešený problém nastal pri dostupnosti fluórových nanočastíc, ktoré som mala pôvodne v pláne využívať na testovanie citlivosti (keďže sú využiteľné pri animálnych modeloch). Tie sa totiž musia baliť do lipidových obalov, čím sa ruší ich lipofóbny a hydrofóbny charakter. Toto balenie je však komplikované a vyžaduje si určitú chemickú zručnosť. Pri ďalšom pokračovaní výskumu doporučujeme tieto nanočastice získať a ich citlivosť testovať.

Bolo by vhodné, ak by sa  $^{19}\text{F}$  MRI dostala do klinickej praxe. Keďže jej bohaté využitie by určite dopomohlo k ďalším výrazným pokrokom v diagnostike rôznych chorôb. Metóda však nebola ešte dostatočne preskúmaná, a preto by bol vhodný vyšší záujem o jej podrobnejšie preskúmanie a následnú snahu aplikácie metódy do praxe. Vhodné by bolo zameranie sa na látky, využiteľné aj naďalej vo výskume, teda netoxické PFC zlúčeniny.

## ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

NMR – nukleárna magnetická rezonancia  
MRI – zobrazovanie magnetickou rezonanciou  
FOV – field of view, zobrazované pole  
RF – rádiové frekvenčné pulzy  
TE – echo čas (time to echo)  
TR – repetičný čas (time to repeat)  
PD – protónová hustota (proton density)  
T1 – longitudinálna relaxácia  
T2 – tranzverzálna relaxácia  
T<sub>1</sub> – čas longitudinálnej relaxácie  
T<sub>2</sub> – čas tranzverzálnnej relaxácie  
PFCE – perfluór-15-crown-5-éter  
PFOB – perfluóroktyl bromid  
PFCs – perfluórové karboxyly  
5-FU – fluóruracil  
PFPE – perfluórpolyéter  
SNR – pomer signálu a šumu  
RARE - rapid acquisition with relaxation enhancement  
MSME – multi-slice multi-echo  
mM – milimol  
napr. - napríklad

# ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] MOROVSKÁ TURONOVÁ PhD., RNDr. Andrea. Jadrová chémia [online]. Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach. [cit. 2013-12-28]. ISBN 978-80-7097-868-9. Dostupné z: <http://www.upjs.sk/public/media/3467/Jadrova-chemia.pdf>
- [2] H. SCHILD, Prof. Dr. Hans. *MRI made easy: (...well almost)*. Berlin: Schering AG, 1990. ISBN 3-921817-41-2. Dostupné z: [http://www.stat.columbia.edu/~martin/Tools/MRI\\_Made\\_Easy.pdf](http://www.stat.columbia.edu/~martin/Tools/MRI_Made_Easy.pdf)
- [3] NAVRÁTIL, Leoš. *Medicínská biofyzika*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2005, 524 s. ISBN 80-247-1152-4.
- [4] BERNSTEIN, Matt A, Kevin Franklin KING a Ziaohong Joe ZHOU. *Handbook of MRI pulse sequences*. Boston: Academic Press, 2004, 1017 s. ISBN 01-209-2861-2.
- [5] LEVITT, Malcolm H, Kevin Franklin KING a Ziaohong Joe ZHOU. *Spin dynamics: basics of nuclear magnetic resonance*. Vyd. 2. Hoboken, NJ: John Wiley, 2008, 714 s. ISBN 04-705-1117-6.
- [6] LIPTAJ, Tibor. *Nukleárna magnetická rezonancia: jadrá atómov v službách chémie a medicíny*. Dostupné z: [http://www.nmr.sk/uploads/nmr\\_kniha.pdf](http://www.nmr.sk/uploads/nmr_kniha.pdf)
- [7] SLIVKA, J. Měření parametrů smrkových jehlic metodami MR zobrazování: bakalářská práce. Brno: FEKT VUT v Brně, 2010. 42 stran., 3 strany příloh. Vedoucí bakalářské práce prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc.
- [8] DRASTICH, A. *Tomografické zobrazovací systémy*. Skripta. Brno: VUT FEKT, ÚBMI, 2004. 208 s. ISBN: 80-214-2788-4
- [9] MRI portál. [online]. [cit. 2013-11-27]. Dostupné z: <http://www.mri-portal.com/index.php>
- [10] MRI Glossary. FONAR. *Fonar MRI* [online]. 2003. vyd. [cit. 2013-11-27]. Dostupné z: <http://fonar.com/glossary.htm>
- [11] Spin echoes and contrast weighting. SIEMENS. *Medical Siemens* [online]. [cit. 2013-11-27]. Dostupné z: [http://www.medical.siemens.com/siemens/en\\_GLOBAL/gg\\_mr\\_FBAs/files/apps/MAGNETOM\\_world/MR\\_Manuals/MR\\_Basics/USA\\_English/Magnets\\_Spins\\_and\\_Resonances/Magnets\\_Spins\\_and\\_Resonances/Advanced/Content/MagnetsSpinsResonances/contrasts\\_1.htm](http://www.medical.siemens.com/siemens/en_GLOBAL/gg_mr_FBAs/files/apps/MAGNETOM_world/MR_Manuals/MR_Basics/USA_English/Magnets_Spins_and_Resonances/Magnets_Spins_and_Resonances/Advanced/Content/MagnetsSpinsResonances/contrasts_1.htm)
- [12] RUIZ-CABELLO, Jesús, Brad P. BARNETT, Paul A. BOTTOMLEY a Jeff W.M. BULTE. *Fluorine (19F) MRS and MRI in biomedicine*. *NMR in Biomedicine* [online]. 2011, vol. 24, issue 2, s. 114-129 [cit. 2013-09-29]. DOI: 10.1002/nbm.1570. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/nbm.1570>
- [13] CHEN, Junjie, Gregory M. LANZA, Samuel A. WICKLINE a Jeff W.M. BULTE. *Quantitative magnetic resonance fluorine imaging: today and tomorrow*. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology [online]. 2010, vol. 2,

- issue 4, s. 431-440 [cit. 2013-10-01]. DOI: 10.1002/wnan.87. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/wnan.87>
- [14] BAETE, S H, Y DE DEENE. *An oxygen consuming phantom for simulating oxygen perfusion in tissue using 19F MRI oximetry*, Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 17 (2009), p. 832. Dostupné z: [http://cds.ismrm.org/protected/10MProceedings/files/2745\\_1125.pdf](http://cds.ismrm.org/protected/10MProceedings/files/2745_1125.pdf)
- [15] RUIZ-CABELLO, Jesús, Piotr WALCZAK, Dorota A. KEDZIOREK, Vadappuram P. CHACKO, Anna H. SCHMIEDER, Samuel A. WICKLINE, Gregory M. LANZA a Jeff W.M. BULTE. *In vivo "hot spot" MR imaging of neural stem cells using fluorinated nanoparticles: today and tomorrow*. Magnetic Resonance in Medicine [online]. 2008, vol. 60, issue 6, s. 1506-1511 [cit. 2013-09-15]. DOI: 10.1002/mrm.21783. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mrm.21783>
- [16] SLÁVIKOVÁ, Viera. *Význam hypoxie v nádorovém mikroprostředí*. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Ústav experimentální biologie 2013. 59 s. Bakalářská práce. Vedoucí práce: RNDr. Petr Chlápek, Ph. D., DiS.
- [17] BAETE, S H, J VANDECASTEELE, Y DE DEENE, Vadappuram P. CHACKO, Anna H. SCHMIEDER, Samuel A. WICKLINE, Gregory M. LANZA a Jeff W.M. BULTE. *19 F MRI oximetry: simulation of perfluorocarbon distribution impact*. Physics in Medicine and Biology [online]. 2011-04-21, vol. 56, issue 8, s. 2535-2557 [cit. 2013-11-02]. DOI: 10.1088/0031-9155/56/8/013. Dostupné z: <http://stacks.iop.org/0031-9155/56/i=8/a=013?key=crossref.73f2d745a78a534aa2aecc046e5ade3d>
- [18] MARSH, Jon N., Kathryn C. PARTLOW, Dana R. ABENDSCHEIN, Michael J. SCOTT, Gregory M. LANZA a Samuel A. WICKLINE. *Molecular Imaging With Targeted Perfluorocarbon Nanoparticles: Quantification of the Concentration Dependence of Contrast Enhancement for Binding to Sparse Cellular Epitopes*. Ultrasound in Medicine. 2007, vol. 33, issue 6, s. 950-958. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2006.12.007. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301562907000105>
- [19] JANJIC, Jelena M. a Eric T. AHRENS. *Fluorine-containing nanoemulsions for MRI cell tracking*. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology [online]. 2009, vol. 1, issue 5, s. 492-501 [cit. 2013-12-18]. DOI: 10.1002/wnan.35. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/wnan.35>
- [20] Spinscope: *NMR Field Cycling Relaxometry*. [online]. [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: <http://www.spinscope.com/the-ffc-technology>
- [21] CARNEIRO, A. A. O., G. R. VILELA, D. B. DE ARAUJO a O. BAFFA. *MRI relaxometry: methods and applications*. [online]. 2006, vol. 36, s. 9-15 [cit. 2014-03-17]. ISSN 0103-9733 Dostupné z: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0103-97332006000100005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0103-97332006000100005&script=sci_arttext)
- [22] BAYER, Julia V., Fabian JAEGER a Gabriele E. SCHAUMANN. *Proton Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Relaxometry in Soil Science Applications*. [online]. 2010, s.

- 15-26 [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: <http://www.benthamscience.com/open/tomrj/articles/V003/SI0014TOMRJ/15TOMRJ.pdf>
- [23] HASHEMI, Ray H, William G BRADLEY a Christopher J LISANTI. *MRI: The Basics*. 3rd ed. Lippincott Williams, c2010, 385 p. ISBN 16-083-1115-5
- [24] MILOŠ, Buděšinský. *Krátký kurs NMR spektroskopie*. In: [online]. UOCHB AV ČR. Praha, 2003 [cit. 2014-04-15]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/lam/new/NMR-kurs%20dohromady.pdf>
- [25] *Foblim PFPE Lubricants: Specialty polymers*. In: [online]. [cit. 2014-05-17]. Dostupné z: [http://www.solvayplastics.com/sites/solvayplastics/EN/Solvay%20Plastics%20Literature/BR\\_Fomblin\\_PFPE\\_Lubricants\\_EN.pdf](http://www.solvayplastics.com/sites/solvayplastics/EN/Solvay%20Plastics%20Literature/BR_Fomblin_PFPE_Lubricants_EN.pdf)
- [26] DRAČÍNSKÝ PH.D., Martin. *NMR: Jaderná magnetická rezonance*. [online]. [cit. 2014-05-17]. Dostupné z: <http://www.studiumchemie.cz/NMR/index.php?stranka=skripta>
- [27] *Kalis: officina dermocosmetica*. [online]. [cit. 2014-05-18]. Dostupné z: <http://www.kalis.it/en/distribuzione-fomblin-hc-pfpe/>
- [28] *Merck Millipore*. [online]. [cit. 2014-05-18]. Dostupné z: [http://www.merckmillipore.com/czech-republic/chemicals/kyselina-trifluoroctova/MDA\\_CHEM-108178/p\\_zZ2b.s1LKroAAAEWpeEfVhTl](http://www.merckmillipore.com/czech-republic/chemicals/kyselina-trifluoroctova/MDA_CHEM-108178/p_zZ2b.s1LKroAAAEWpeEfVhTl)
- [29] *Merck Millipore*. [online]. [cit. 2014-05-18]. Dostupné z: [http://www.merckmillipore.com/slovakia/2-2-2-trifluoretanol/MDA\\_CHEM-808259/p\\_0j2b.s1LLjkAAAEWpeEfVhTl](http://www.merckmillipore.com/slovakia/2-2-2-trifluoretanol/MDA_CHEM-808259/p_0j2b.s1LLjkAAAEWpeEfVhTl)
- [30] GYMNÁZIUM, Park mládeže. *Hydroxyderiváty uhl'ovodíkov*. Dostupné z: <http://gpm.edupage.org/files/Hydroxyderivaty.pdf>
- [31] *IKV TRIBIOLOGY*. [online]. [cit. 2014-05-18]. Dostupné z: <http://www.ikvlubricants.com/pfpe-perfluoropolyether-lubricants>